# การสำรวจราในอากาสที่เกี่ยวข้องกับอาการแพ้

นางสาว สุทธิพร แสนเรื่อง



วิทยานิพนษ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบังเพิต แผนกวิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิศวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาจิทยาลัย

W. A. beloo

## SURVEY OF AIR - BORNE FUNGI RELATED TO ALLERGY

Miss Suthiporn Sanruang

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science

Department of Botany
Graduate School

Chulalongkorn University

1977

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การสำรวจในอากาศที่เกี่ยวข้องกับอาการแพ้

ลู้ ชูอ นางสาว สุทธิพร แสนเรื่อง

แผนกวิชา

พฤกษาาสตร์

ปีการศึกษา

2519

บทอักยอ



นับตั้งแต่ได้มีรายงานจากแหล่งต่าง ๆ ทั่วโลกเกี่ยวกับราในอากาศ ที่ทำให้เกิด อาการแพ้ในทางเดินระบบหายใจ การสำรวจ spore ของราในอากาศ และลักษณะของ อาการแพ้ ได้รับการศึกษาคนคว้าเพิ่มเติมอย่างกว้างขวาง โดยนักวิทยาศาสตร์ และ แพทย์โรคภูมิแพ้ในค่อ ๆ มา

การแพ้ตอ spore ของเชื้อราในอากาศนี้ขึ้นกับแต่ละบุคคล ลักษณะของที่อยู่อาศัย และสิ่งแวคล้อม ในชีวิตประจำวัน การสำรวจจากแหล่งต่าง ๆ ทั่วโลกจะเห็นได้ว่า เชื้อ ราที่ทำให้เกิดอาการแพ้ พบได้หนาแน่นมากในบรรยากาศ

การศึกษาเชื้อราในอากาศตรั้งนี้ใช้ plate method ในการเพาะเชื้อราจาก
อากาศ ทำการทคลองเป็นเวลา 1 ปี ตั้งแต่เคือนมกราคม ถึง เคือนธันวาคม พ.ศ. 2518
ใช้สถานที่ทำการทคลอง 2 แห่ง คือที่ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย และ หลานหลวง กรุงเทพฯ แต่ละแห่งทำการทคลองทั้งในสถานที่ และนอกสถานที่ อาหารเลี้ยงเชื้อราที่ใช้แบ่งเป็น 2 พวก
ใหญ่ ๆ คือ natural medium และ semisynthetic medium ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ในการทคลองครั้งนี้ได้แก่ potato dextrose agar, coconut medium, modified malt extract medium และ modified Mehrlich's medium.

อาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 จัดเตรียบขึ้นพร้อมกันในห้องทคลอง หลังจาก sterilization แล้ว เทใส่ลงใน petridish plate โดยใส่ plate ละ 20 ml ทิ้งไว้ให้เย็น นำ petridish plate 4 plates ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ไปเปิดรับเชื้อ ราในอากาศเวลา 11.00น. ใช้เวลาเปิด plate นาน 15 นาที การเปิดplate พกลอง ทำทั้งในและนอกสถานที่ ทั้ง 2 **คือที่**จุฬาองกรณมหาวิทยาลัย และที่หลานหลวง

ที่หลานหลวง ทคลองที่อาคาร 4 ชั้น อายุประมาณ 8 ปี การทคลองในสถานที่ ทำในห้องนอนชั้น 2 โดยวาง plate บนโต๊ะสูงจากพื้น 2 ฟุต ส่วนนอกสถานที่ ที่หลาน-หลวงเปิด plate การทดลองที่คาดฟ้า ของอาคารเดียวกัน สูงจากพื้นดิน 15 เมตร

ที่จุฬาลงกรถมหาวิทยาลัย การทคลองในสถานที่ทำในห้องเรียนชั้น 2 ศึกพฤกษ-ศาสตร์ เปิด plate บนโต๊ะ สูงจากฟื้น 3 ฟุต ส่วนนอกสถานที่ของที่จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ทำการทคลองที่สนามหญ้าค้านเหนือ ศึกพฤกษศาสตร์ หางจากตัวศึก 10 เมตร โดยวางplate บนโต๊ะสูงจากฟื้น 3 ฟุต

นำ plate ที่เปิดรับเชื้อราในอากาศแล้วมาไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิประมาณ 30 ± 2°C หลังจากนั้น 4-10 วัน ตรวจและจำแนกเชื้อราที่พบใน plate ถึงระดับ genus นับจำนวน colony ในแกละ plate แยก pure colony ลงในหลอดหคลอง เชื้อราบางชนิดไม่ สามารถจำแนกชนิดได้จาก plate หคลองก็ใช้ slide culture technique ช่วยในการ จำแนก และเชื้อราบางชนิดหลังจากทำ slide culture และทำ semi-permanent stained slide แล้วถ่ายรูปจากกล้องจุลทรรศน์ (Photomicrograph)

จากผลการหคลอง พบวาที่จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย และหลานหลวง เพาะเชื้อ ราจากอากาศไค้ 34 genera บาง genus ก็พบหลาย species และจากการหคลอง พบวา potato dextrose agar เหมาะสำหรับเพาะเชื้อราในสถานที่ เช่น Rhiz pus sp., coconut medium เหมาะสำหรับ yeast และ lower fungi เช่น Streptomyces sp. Pullularia sp. ขึ้นได้ดีใน modified malt extract medium ส่วน Curvularia sp. และ Penicillium sp. เจริญได้ดีใน modified Mehrlich's medium แพ่ media นี้ไม่ลอยเหมาะกับ Aspergillus species

จากผลการทคลอง จำนวนของ spore ที่กระจายในสถานที่ของที่หลานหลวงจะมี ปริมาณของ spore มากกวานอกสถานที่ เช่น จำนวน spore ของ <u>Etizopus sp</u>. แสคงถึงวาในสถานที่ ที่หลานหลวงมีความชื้นสูงนอกสถานที่

การทคลองทั้งใน และนอกสถานที่ ทั้งที่จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย และหลานหลวง
พบวาเชื้อราที่มีจำนวนมาก ในอากาศคล้ายกันทั้ง 2 แห่ง ได้แก่ Cladosporium sp.

Curvularia sp., Aspergillus sp., Penicillium sp., Fullularia sp.
and yeasts ราซึ่งจำนวนสูงที่สุด ได้แก่ Cladosporium, Curvularia, Aspergillus และ Pullularia ตามลำดับ

ฤตูหนาวระหวางเดือนตุลาคม ถึง มกราคม จำนวนของ spore ของ Cladosporium และ Curvularia จะขึ้นสูง โดยเฉพาะ Cladosporium จะสูงมากในช่วงนี้
ในฤดูร้อนตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือน พฤษภาคม จำนวนเชื้อราในอากาศชวงนี้มีน้อย
ที่พบคือ Penicillium และ yeasts ในฤดูฝน ช่วงเดือนมิถุนายน ถึง กันยายน จำนวน
ของ spore ของราในอากาศจะสูง โดยเฉพาะ spore ของ Curvularia นอกจากนั้น
ยังพบ Pullularia sp. และ Aspergillus sp. ก้วย

สภาพของคินฟ้าอากาสตามอกูกคล โดยเฉพาะอยางยิ่ง ความชื้นสูง ๆ อากาส อบอุ่นชองเขตมรสุมโชนร้อน จะช่วยส่งเสริมการใจริญเต็บโตของรา ฮรุปได้วาใชื้อราใน อากาสที่สำรวจพบ จากสถานที่ทำการทดลองทั้ง 2 แห่ง ได้แก่ Cladosporium, Curvularia, Aspergillusและ yeast.

อยางไรก็ตาม การกึกษาเพิ่มเติมที่อาจทำไก้ คือ การร่วมมือกันระหวางนัก วิทยาสาสตร์ และแพทย์โรคภูมิแพ้ กึกษาเกี่ยวกับ yeast และ เพาะอะบุนธ species ที่พบ จำนวนมาก จากการทัดลองครั้งนี้ Accepted by the graduate School, Chulalongkorn University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science.

| 1     | त संगाधिय | Nie. |
|-------|-----------|------|
|       | 派         | 1    |
| 1     |           | 灣    |
| 13.30 | PHILIPSE  | WILL |

(Professor Dr. Visid Prachuabmoh)

Dean

(Assistant Professor, Dr. Phaiboolya Phanichyakarn)

Thesis Advisor: Dr. Sumalee Pichyangkura
Copyright 1977

p2

The Graduate School
Chulalongkorn University

Thesis Title : Survey of Air - Borne Fungi Related to Allergy.

By : Miss Suthiporn Sanruang

Department : Botany

Thesis Title Survey of Air-Borne Fungi Related to Allergy.

Name Miss Suthiporn Sanruang

Department of Botany

Academic Year 1976

#### ABSTRACT



Since many papers from several parts of the world reported concerning mold spores which gave respiratory hypersensitivity, survey of air-borne spore and domonstrate in allergic reaction has been broadly investigated among allergist and mycologist.

Allergy to mold is confined to individual with a peculiar residential or occupational exposure. Fungi related to allergy were usually abundant in the atmosphere. Many reports from several parts of the world supported this idea.

The plate method was adopted for atmospheric fungal trapping in this experiment and has been utilized through the study. The survey encompassed one year period of 1975, two exposure areas were located at Chulalongkorn University and Lan Luang district in Bangkok.

Two basic groups of media, natural medium and semisynthetic medium were used. The culture media were selected for the purpose of trapping appropriate fungi. The four kinds of media were potato dextrose agar, coconut medium, modified malt extract medium and modified Mehrlich's medium. For each exposure at each site, two sets

of four different media were prepared. Each plate contained approximately 20 ml. of the medium.

A set of four plates containing each medium were exposed indoor and another set outdoor for 15 minutes at 11.00 A.M. at the two exposure sites. This was repeated weekly.

Indoor exposure at Lan Luang was done in the bedroom on the second floor of an 8 year old building. Four petridishes were exposed indoor on the bed, two feet above the floor. The outdoor exposure site at Lan Luang was on the flat roof of the same building. The roof of the building was 15 meters high.

Indoor exposure site at Chulalongkorn University was the room of the second floor in Botany building. The outdoor exposure site was made on the lawn 10 meters away from Botany building toward the north. A set of four of culture plates were exposed 15 minutes on the table 3 feet above the ground.

Each of exerce potes was brought back to 30 - 2°C.

incubation room. After 3 days of incubation, the plates were grossly examined and pure colonies were isolated for the purpose of precise identification of fungi. All fungal colonies grown in the plates were counted and identified to genus level. The distribution of fungal colonies on the medium was varied, depending on the ability of the fungus to grow on such kind of medium. However, the data were pooled and contributed complete pattern of atmospheric spora. For certain fungi not identifiable from the plate the slide culture technique was used. In this study some of the conidial patterns were recorded by Photomicrograph.

From atmospheric fungal survey of the two places, Lan Luang and Chulalongkorn University, thirty-four genera of fungi were found. Some of them were composed of several species. Potato dextrose agar was good as an indoor trap as well as a growth promotor of Rhizopus. sp. Coconut medium was a new medium used in order to trap mold related to allergy by this author. It was good for trapping yeasts and Streptomyces sp. The interesting point was Pullularia sp. which grew on modified malt extract medium in great quantity when compared to other media. The most favourable medium for growing Curvularia was modified Mehrlich's medium. Aspergillus species on a modified Mehrlich's medium showed less growth than that on other media. Penicillium grew well on the modified Mehrlich medium.

The pattern of genera distribution of outdoor and indoor trapping at lan Luang was different. The results showed higher number of shores from the indoor trap than the outdoor one. This was indicated that indoor area of sampling was humid.

Collected data were pooled at sach sampling site, common fungi related to allergy found in the atmosphere were Cladosporium, Curvularia, Aspergillus, Penicillium, Pullularia and yeasts.

The top-four genera of fungi found outdoor at the two exposure sites, Lan Luang district and Chulalongkorn University, were Cladosporium, Curvularia, Aspergillus and Pullularia. Seemingly the distribution of spores in the air of the two areas showed almost the same genera. Cladosporium and Curvularia were abundant

from October through January. However, spore distribution of these two species dipped in summer. Penicillium sp. and yeasts appeared to be the dominant species in warm weather. In rainy season, from June to September, the concentration of fungal spores was increased. The dominant genera were Curvularia sp., Pullularia sp. and Aspergillus sp.

In accordance with seasonal condition particularly high moisture and warm temperature of tropical monsoon are favorable for fungal growth. It might be concluded that fungi related to allergy at the two exposure sites were Cladosporium, Curvularia, Pullularia, Aspergillus and yeast. However there should be collaborative experiment of mycologist and allergist to work on these organisms, especially yeasts and Rhizopus species which were found abundantly under tropical country.

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



#### ACKNOWLEDGEMENTS

The author wish to give her grateful thanks to my advisor, Dr. Sumalee Pichyangkura for her generous advice, attentive guidance, constructive criticism and encouragement throughout my graduate study.

Sincere thanks are also expressed to Assistant Professor, Dr. Phaiboolya Phanichyakarn, Ramathibodi Hospital, for his helpful guidance, and his kindly served in the thesis committee.

Unforgetable thanks are also expressed to Dr. Kanyarat
Chaiyasut and her graduate assistance Intivara Soodoomsin for
their generous advice and providing the equipments in photomicrograph.

The author is indepted to Associate Professor, Dr. Waiwit Buddhari, Head Department of Botany, Faculty of Science, Chula-Lingkorn University who is kindly served in thesis committee.

The author wish to express her deepest appreciation to Phra Mahittalathibet fund for providing her with the opportunity to carry out this research.

## CONTENS

|                                      | Page |
|--------------------------------------|------|
| Abstract in Thai                     | iv   |
| Abstract in English                  | vii  |
| Acknowledgements                     | Хi   |
| List of Figures                      | xii  |
| List of Tables                       | xvi  |
| Chapter                              |      |
| 1. Introduction                      | 1    |
| 2. Literature Review ····· ····      | 5    |
| The distribution of air-borne fungi  | 5    |
| Clinical aspects of mold sensitivity | 16   |
| 3. Material and Method               | . 21 |
| Material                             | 21   |
| Method.                              | 25   |
| 4. Result                            | 32   |
| 5 Discussion                         | 133  |
| 6. Conclusion                        | 143  |
| จหาลงกรณมหาวทยาลย                    |      |
| Bibliogram'ıy                        | 145  |
| Appendix                             | 153  |
| Vita                                 | 154  |

#### LIST OF FIGURES

| Figure |  | Page |
|--------|--|------|
| 1      | Slide culture technique                          | 30   |
| 2      | Comparison colony numbers and monthly            | -    |
|        | distribution of the top-three genera, indoor     |      |
|        | and outdoor traps on potato dextrose agar at     |      |
|        | Lan Luang  | 40   |
| . 3    | Comparison colony numbers and monthly            |      |
|        | distribution of the top-three dominant genera,   |      |
|        | indoor and outdoor traps on coconut medium at    |      |
| ,      | Ian Luang  | 48   |
| 4      | Comparison colony numbers and monthly distribu-  |      |
|        | tion of the top-three genera, indoor and outdoor |      |
|        | traps on modified malt extract medium at Lan     |      |
|        | Luang  | . 56 |
| 5      | Comparison colony numbers and conthly distri-    | •    |
|        | bution of the top-three genera, indoor and       |      |
|        | outdoor traps on modified Mehrlich medium at     |      |
| •      | Lan Luang  | 64   |
| 6      | Comparison colony numbers and monthly distribu-  |      |
| r      | tion of the top-three genera, indoor and outdoor |      |
|        | traps on potato dextrose agar at Chulalongkorn   |      |
|        | University                                       | 72   |

| Figure |  | Page                                  |
|--------|--|---------------------------------------|
| 7      | Comparison colony numbers and monthly          |                                       |
|        | distributions of the top-three genera,         |                                       |
|        | indoor and outdoor traps on coconut medium     |                                       |
|        | at Chulalongkorn University                    | 80                                    |
| 8      | Comparison colony numbers and monthly          |                                       |
| •      | distribution of the top-three genera,          |                                       |
|        | indoor and outdoor traps on modified malt      |                                       |
|        | extract medium at Chulalongkorn University     | 87                                    |
| 9      | Comparison colony numbers and monthly          |                                       |
|        | distribution of the top-three genera,          |                                       |
|        | indoor and outdoor traps on modified           |                                       |
|        | Mehrlich's medium at Chulalongkorn University  | 95                                    |
| 10     | Show dominant numbers of genus in each month   | * * * * * * * * * * * * * * * * * * * |
|        | from pool data indoor trap at Ian Luang        | . 100                                 |
| 11     | Comparison colony numbers and monthly          |                                       |
|        | distribution of the top-five genera from       |                                       |
|        | pool data indoor trap at Lan Luang             | 101                                   |
| 12     | Show dominant numbers of genus in each month   |                                       |
| ,      | from pool data outdoor trap at Lan Luang       | 106                                   |
| 13     | Comaprison colony number and monthly distribu- |                                       |
| . ,    | tion of the top-five genera from outdoor trap  |                                       |
| -      | at Ian Luang                                   | 100                                   |
|        | co rect ricitle                                | 107                                   |

| Figure |  | Page  |
|--------|--|-------|
| 14     | Show dominant numbers of genera in each  |       |
|        | month from pool data indoor trap at      |       |
|        | Chulalongkorn University                 | . 112 |
| 15     | Comparison colony numbers and monthly    |       |
|        | distribution of the top-five genera from |       |
| •      | pool data indoor trap at Chulalongkorn   |       |
|        | University                               | 113   |
| 16     | Show dominant numbers of genus in each   |       |
|        | month from pool data outdoor trap at     | •     |
|        | Chulalongkorn University                 | 114   |
| 17     | Comparison colony numbers and monthly    |       |
|        | distribution of the top-five genera from |       |
|        | pool data outdoor trap at Chulalongkorn  | ,     |
|        | University                               | 119   |
| 18     | Cheanephora sp                           | 120   |
| 19     | Mucor sp                                 | 120   |
| 20     | Rhizopus sp.                             | 1:21  |
| 21     | Syncephalastrum sp.                      | 121   |
| 22     | Black yeast                              | 122   |
| 23     | Chaetomium sp.                           | 122   |

| Figure     |                      |                   | . P    | e ge |
|------------|----------------------|-------------------|--------|------|
| 24         | Alternaria sp        |                   | 1      | 23   |
| 25         | Aspergillus sp       |                   | 1      | 24   |
| 26         | Cladosporium sp      |                   | 1      | 25   |
| 27         | Curvularia sp        |                   | 1      | 26   |
| 28         | Fusarium sp          | c • • • • • • • • | 1      | 26   |
| 29         | Gliocladium sp       |                   |        | 27   |
| 30         | Helminthosporium sp. |                   |        | 85   |
| 31         | Nigrospora sp        |                   | 1      | 29   |
| 32         | Paecilomyces sp      |                   |        | 29   |
| <b>3</b> 3 | Penicillium sp       |                   |        | 30   |
| 34         | Phialophora sp       |                   | 1      | 30   |
| 35         | Pullularia sp        |                   | 1      | 31   |
| 36         | Trichoderga sp       |                   | 1      | 32   |
|            | จุฬาลงกรณ่           |                   | ายาลัย |      |

### LIST OF TABLES

| Table |  | Page |
|-------|--|------|
| 1     | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on potato dextrose agar, indoor trap at Lan      | ·    |
|       | Luang  | 34   |
| 2     | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on potato dextrose agar, outdoor trap at Lan     |      |
|       | Luang  | 37   |
| 3     | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on coconut medium indoor trap at Lan Luang       | 42   |
| . 4   | Numbers and distribution of mold colonies on     |      |
|       | coconut medium, outdoor trap at Lan Luang        | 45   |
| 5     | Numbers and distribution of mold colonies on     |      |
|       | malt extract mealum, indoor trap at Lan Luang    | 50   |
| b     | Numbers and distribution of mold colonies on     |      |
|       | malt extract medium, outdoor trap at Lan         |      |
|       | Luang  | 53   |
| 7     | Numbers and distrubution of mold colonies on     | •    |
|       | modified Mehrlich's medium, indoor trap at       |      |
|       | Tan Inang  | 58   |

| Table |  | Page |
|-------|--|------|
| 8     | Numbers and distribution of mold colonies on     |      |
|       | modified Mehrlich's medium, outdoor trap at      |      |
|       | Lan Luang  | 61   |
| 9 -   | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on potato dextrose agar, indoor trap at          |      |
| •     | Chulalongkorn University                         | 66   |
| 10    | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on potato dextrose agar, outdoor trap at         |      |
|       | Chulalongkorn University                         | 69   |
| 11    | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on coconut medium, indoor trap at Chulalongkorn  |      |
|       | University                                       | 74   |
| 12    | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
| •     | on coconut medium, outdoor trap at Chulalongkorn | ÷    |
|       | Universit,                                       | 77   |
| 13    | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on modified malt extract medium, indoor trap at  |      |
|       | Chulalongkorn University                         | 81   |
| 14    | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on modified malt extract medium, outdoor trap    |      |
|       | at Chulalongkorn University                      | 84   |

| Table |  | Page |
|-------|--|------|
| 15    | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on modified Mehrlich's medium, indoor trap at    | •    |
|       | Chulalongkorn University                         | 89   |
| 16    | Numbers and genera distribution of mold colonies |      |
|       | on modified Mehrlich's medium, outdoor trap at   |      |
|       | Chulalongkorn University                         | 92   |
| 17    | Pool data of numbered distribution of fungal     |      |
|       | colonies on four different media, outdoor trap   |      |
|       | at Lan Luang in twelve months                    | 97   |
| 18    | Pool data of numbered distribution of fungal     |      |
| •     | colonies on four different media, outdoor trap   |      |
|       | at Lan Luang in twelve months                    | 103  |
| 19    | Pool data of numbered distribution of fungal     |      |
|       | colonies on four different media, indoor trap    |      |
|       | at Chulalongmorn University                      | 109  |
| 20    | Pool data of numbered distribution of fungal     |      |
| ••    | colonies on four different media, outdoor trap   |      |
|       | at Chulalongkorn University                      | 115  |