

JUSTYNA JAKUBAS-ZAWALSKA

## **Badania nad antygenami wybranych gatunków owadów i roztoczy magazynowych na terenie Województwa Śląskiego**

### **Streszczenie**

**Słowa kluczowe:** roztocze przechowalniane, owady przechowalniane, alergie zawodowe, alergeny, stawonogi alergenne

Występowanie chorób alergicznych jest obecnie znacznie częstsze niż kilkadziesiąt lat temu. Stawonogi magazynowe mogą stanowić przyczynę chorób alergicznych. Przede wszystkim łączone są z uczuleniami związanymi z wykonywanym zawodem i występują głównie wśród rolników, magazynierów, piekarzy, młynarzy oraz innych osób zawodowo związanych z rolnictwem. Kontakt z unoszącym się podczas pracy pyłem może powodować zapalenie spojówek, nieżyt nosa, uczulenia skórne bądź astmę oskrzelową. Stawonogi magazynowe występują przede wszystkim w miejscach charakteryzujących się znaczną wilgotnością wewnątrz pomieszczeń mieszkalnych, natomiast spotykane są zarówno w środowisku wiejskim jak i miejskim. Uczulenia tego typu występują głównie na terenach rolniczych, jednakże stwierdzane są także na terenach miejskich, u osób niezwiązanych z rolnictwem. Pomimo znacznego rozpowszechnienia tych szkodników w środowisku, wiedza na temat ich alergenów jest wciąż fragmentaryczna.

Celem nadrzędnym była ocena ryzyka ekspozycji mieszkańców i pracowników przemysłu spożywczego województwa śląskiego na roztocze i owady magazynowe oraz antygeny tych stawonogów. Celem drugorzędnym było wykrycie frakcji białkowych o możliwym potencjale alergennym oraz ocena częstości reakcji pozytywnych na poszczególne frakcje białkowe wybranych gatunków roztoczy i owadów przechowalnianych w ogólnej populacji mieszkańców Górnego Śląska.

Aby osiągnąć zamierzone cele, wykonano: analizę akarologiczną i entomologiczną prób pochodzących z pomieszczeń gospodarskich, sklepów spożywczych i paszy dla zwierząt hodowlanych z magazynów zlokalizowanych na terenie województwa śląskiego w celu ustalenia składu gatunkowego i liczebności akarofauny oraz entomofauny alergennej, a także

identyfikację frakcji białkowych najczęściej dających pozytywne reakcje w badanych surowicach pochodzących od mieszkańców Górnego Śląska u wybranych gatunków owadów (*S. granarius* i *O. surinamensis*) i roztoczy przechowalnianych (*L. destructor* i *T. putrescentiae*).

Przeprowadzona została analiza akarologiczna pyłu zalegającego w magazynach oraz analiza akaroentomologiczna prób paszy dla zwierząt hodowlanych. Zebrano 30 prób z pomieszczeń gospodarstwa wiejskiego, 30 prób z pomieszczeń sklepów spożywczych oraz 15 prób paszy dla zwierząt hodowlanych, wszystkie pochodzące z terenów województwa śląskiego. Stawonogi izolowano za pomocą lejków Berlese'go i konserwowano w roztworze alkoholu etylowego oznaczając następnie przy użyciu odpowiednich kluczy. Ponadto, przeprowadzono analizę immunologiczną 30 surowic pacjentów zamieszkujących województwo śląskie z ekstraktami dwóch gatunków owadów (*S. granarius* i *O. surinamensis*) oraz dwóch gatunków roztocy (*L. destructor* i *T. putrescentiae*). Badania owadów przeprowadzono na larwach, poczwarkach oraz osobnikach dorosłych chrząszczy. Do badań immunologicznych wykorzystywano metody SDS PAGE oraz Western blot. Dodatkowo, wybrano do analiz molekularnych jedno białko – podjednostkę I mitochondrialnej oksydazy cytochromu c (COI) i aby sprawdzić jego ekspresję u wszystkich aktywnych stadiów rozwojowych badanych owadów przeprowadzono izolację DNA, następnie otrzymane DNA było amplifikowane w reakcji PCR (*Polymerase Chain Reaction*) za pomocą specyficznych starterów.

Przeprowadzone badania akarologiczne i entomologiczne wykazały, iż zabudowania gospodarskie oraz magazyny produktów spożywczych zlokalizowane na terenie województwa śląskiego są źródłem licznych roztoczy alergicznych i istnieje wysokie ryzyko ekspozycji na antygeny tych roztoczy wśród osób mieszkających i pracujących na terenach wiejskich, a także pracujących w sklepach spożywczych, piekarniach i innych miejscach, w których pracownik ma kontakt z magazynowaną żywnością. Istnieje także ryzyko ekspozycji na roztocze alergenne oraz antygeny owadów *S. granarius* i *A. pellio* wśród osób zajmujących się obróbką paszy i karmieniem zwierząt hodowlanych. Przeprowadzone badania immunologiczne wykazały, iż mieszkańcy Górnego Śląska reagują na liczne frakcje białkowe gatunków roztocy *L. destructor* i *T. putrescentiae* oraz owadów *S. granarius* i *O. surinamensis*, a reakcje pozytywne na antygeny roztocy i owadów są częste w obrębie badanej populacji. Wykazano również, iż wszystkie aktywne stadia rozwojowe owadów są źródłem antygenów, przy czym reakcje na antygeny owadów przechowalnianych są znacznie częstsze w porównaniu z reakcjami na

antygeny roztoczy przechowalnianych. Analiza molekularna wykazała obecność podjednostki I mitochondrialnej oksydazy cytochromu c (COI) oraz frakcji białkowych o masie równej lub zbliżonej do COI u wszystkich stadiów rozwojowych badanych gatunków owadów, co wskazuje na możliwość wystąpienia u nich ekspresji tego białka i jego potencjalnych właściwości alergicznych.

JUSTYNA JAKUBAS-ZAWALSKA

## Research on antigens of storage mites and storage insects in Silesian province

### Abstract

**Key words:** storage mites, storage insects, occupational allergy, allergens, allergenic arthropods

The prevalence of allergic diseases is increasing dramatically nowadays. Storage arthropods have been shown to cause sensitization and allergic diseases. They mainly cause sensitization among persons connected with agriculture like farmers, grain-storage workers, bakers, millers and other. Exposure to grain dust may cause conjunctivitis, rhinitis, dermatitis or asthma. Storage arthropods occur mostly in the humid housing conditions although are found both in rural and urban environments. Allergy to these arthropods is of a major importance in the rural areas but there are also proven cases of sensitization to these arthropods in urban population without occupational exposure. Though they are very common pests, knowledge about their allergens is still very poor.

The primary intention of this work was the risk assessment of the exposure of the citizens and food industry employees from Silesia Province to storage mites and storage insects and antigens to these arthropods. The secondary purpose was to detect protein fractions with the possible allergic potential and to estimate the frequency of the positive reactions to particular protein fractions of the selected species of storage mites and storage insects among the general population of the Upper Silesia.

To reach the intended aims, the following research tasks were conducted: performing an acarological and entomological analyses of the samples from farming buildings, stores and the forage samples from stores located in Silesia Province to determine species composition and quantity of the acarofauna and entomofauna, but also identifying the protein fractions that predominantly demonstrate the positive reactions among the sera of the citizens from the Upper Silesia by researching the selected species of storage insects (*S. granarius* and *O. surinamensis*) and storage mites (*L. destructor* and *T. putrescentiae*).

The acarological and entomological analysis were performed. Samples of litter and dust were collected from 30 different farming buildings, 30 stores in urban areas and also from 15 forage samples for farm animals in Silesian province. The allergenic species were extracted by the Berlese funnels method and preserved in ethanol. Using identification keys arthropods were identified to the species level. Moreover, sera of 30 patients from a suburban population of Upper Silesia (South Poland) were tested for the presence of IgE antibodies to antigens from two species of storage insects (*S. granarius* and *O. surinamensis*) and storage mites (*L. destructor* and *T. putrescentiae*). The larvae, pupae and both adults of the beetles were used to prepare the whole body extracts. The proteins were fractioned by SDS PAGE and identified by Western blot. Furthermore, the subunit I of mitochondrial cytochrome c oxidase (COI) was chosen to check the expression occurrence considering every developmental stage of the studied insect species. Isolation of the DNA and then amplification in polymerase chain reaction with specific starters was performed.

The conducted acarological and entomological studies showed that farm buildings and food product storehouses located in Silesia Province are the source of numerous allergenic mites and there is a high risk of exposure to antigens of these allergenic mites among people living and working in the rural areas, as well as people working at shops, bakeries and other places where an employee is in contact with the storage food. There is a risk of exposure to allergenic mites among people dealing with forage processing and feeding farm animals. Moreover, the aforementioned workers are also subject to *S. granarius* and *A. pellio* antigens. Upper Silesia citizens react to multiple protein fractions of *L. destructor*, *T. putrescentiae*, *S. granarius* and *O. surinamensis* and positive reactions to mite and insects antigens are common among the studied population. Upper Silesia citizens react to a considerable amount of protein fractions of an every active developmental stage of *S. granarius* and *O. surinamensis* and reactions to storage insects antigens are much more frequent in comparison to reactions to storage mites antigens. Proving the presence of the subunit I of mitochondrial cytochrome c oxidase (COI) and demonstrating protein fractions whose mass equals or is close to the mass of the subunit I of mitochondrial cytochrome c oxidase (COI) considering every developmental stage of the studied insect species indicate the possibility of that protein expression occurrence and the protein's potential allergenic properties.