وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

التحري عن تلوث الخلطات العشبية لمرضى داء السكري بالفطريات وسمومها

بحث مقدم الى كلية للعلوم الصرفه/جامعة ديالى وهي جزء متطلبات

نيل شهادة الدبلوم العالي في علوم الحياة

من قبل الطالب

اسماعيل حسن علي

بكالوريوس علوم الحياة 2008–2009 / جامعة ديالى

بأشراف

أ.م.د. رباب مجيد عبد

1442هـ **2020م**

1-المقدمة

ان للتداوي بالاعشاب في الوقت الحاضر اهمية لا تقل عن اهمية الطب الحديث اذ تتم معالجة مختلف انواع الامراض بالاعشاب الطبية التي تباع بوصفها ادوية في الاسواق وفي محلات مخصصة لبيع الاعشاب الطبية/ والتي تسمى بالمعاشب كما تباع في محلات العطارين الذين يبيعون التوابل وغيرها ويسمى حينها طب الاعشاب بالطب العطاري (الشطي,1970) . يعزى ازدياد اقبال المرضى على التداوي بالاعشاب والطب البديل الى العديد من الاسباب الدينية والاجتماعية والثقافية والاقتصادية / والتي يمكن ان تعزى الى الظروف السياسية والامنية التي مر بها العراق والتي ادت الى هجرة العديد من الاطباء الاكفاء الى خارج البلد , غلاء اسعار بعض الادوية الكيميائية جعل المرضى يتجهون الى العلاجات الاقل سعرا وكلفة , كما ان للتداوي بالاعشاب فاعليته العلاجية باقل كلفة ممكنة , فضلا عن ان الفكرة السائدة عند الغالبية من المستخدمين لهذه الخلطات انها اذا لم تنفع فلن تضر , كما لا يخفى علينا ان للعديد من العلاجات مضامين دينية مثل الحجامة ، والعسل ، والحبة السوداء المسماة بحبة البركة وغيرها واخيرا تؤدي العادات والتقاليد الاجتماعية المتوارثه دورا في زيادة الاقبال على التداوي بالاعشاب الطبية (محمود,2009).

تستخدم الاعشاب الطبية بطرائق عدة فهي قد تستعمل للاستطباب الخارجي كالكمادات والغسول والمراهم او انها قد تحضر بالنقع او الغلي , كما ان في التداوي بالاعشاب قد يستخدم نبات واحد او خليط من النباتات كما تختلف الاجزاء النباتية المستخدمة في الخلطات العشبية (Cheij,1984). ان الاعتقاد السائد بين افراد المجتمع وهو " ان التداوي بالاعشاب ان لم ينفعك لا يضرك" يعتبر هذا الاعتقاد خاطئ فهناك العديد من المخاطر الصحية التي يسببها تناول مثل هذه الوصفات العشبيه منها قلة كفاءتها , الاثار الجانبية الناجمة عن تداخل تناول مثل هذه الوصفات مع الادوية الكيميائية , ان القيمية النوعية للاعشاب والمستخلصات تتاثر منذ بداية زراعتها وحتى تجفيفها او استخلاصها , فضلا عن تلوثها بالاحياء المجهرية كالبكتريا والفطريات وسمومها (محمود,2009) .

اشارت العديد من الدراسات الى تلوث الاعشاب الطبية بالعديد من الاجناس الفطرية وسمومها كما في دراسة Idu واخرون (2010) والتي تضمنت جمع 60 عينة من النباتات الطبيه من السوق المحلية لخمس مناطق مختلفة في نيجيريا والتي اظهرت ان جميع العينات كانت ملوثة بالفطريات والتي تراوحت اعدادها الكلية من (0.0×10^{-1} الى 6.1×10^{-6}) cfu/g كما اظهرت هذه الدراسة ان الفطريات المعزولة تعود الى ستة اجناس فطرية هي , *Penicillium* , *Mucor* , *Abisididia* , *Aspergillus* . *Saccharomyces* , *Rhizopus*

كما تم خلال دراسة شخينب واخرون(2011) عزل 1189 عزلة فطرية من 30 عينة من الاعشاب الطبية مثل الزعتر ،والبطنج ، وحبة الحلبة وتم جمع هذه الاعشاب من سوق العطارين في محافظات البصرة , بغداد و الناصرية . اشارت دراسة Zheng واخرون(2017) ان الاعشاب الطبية المعروضه في السوق المحلية الصينية كانت ملوثة بالفطريات وسمومها اذ تم جمع 15 عينة من اماكن مختلفة وعزل من هذه العينات 126 عزلة فطرية تعود بشكل اساس الى الاجناس الفطرية *Penicillium* و *Aspergillus* . اكدت دراسة Keter واخرون(2017) ان بعض الخلطات المصنوعة من الاعشاب الطبية والمعروضة في الاسواق المحلية الكينية كانت ملوثة بالفطريات وسمومها . واظهرت دراسة Abed واخرون (2020) ان 80 % من الخلطات العشبية المستعملة لانقاص الوزن كانت ملوثة بالعديد من الاجناس الفطرية و بانواع مختلفة من السموم الفطرية منها الافلاتوكسين B1,B2,G1 و الاوكراتوكسين A بنسب وتراكيز مختلفة .

بسبب الاقبال المتزايد من قبل العديد من شرائح المجتمع على تناول الخلطات العشبية لعلاج العديد من الامراض منها داء السكري منهم انها امنة صحية ولا تؤدي الى حصول اثار جانبية لذا كان هدف الدراسة الحالية الى :-

1- التحري عن تلوث بعض الخلطات العشبية لمرضى داء السكري المأخوذة من محلات العشابين في بعقوبة بالفطريات .
2- الكشف تلوث بعض الخلطات العشبية لمرضى داء السكري المأخوذة من محلات العشابين في بعقوبة بالسموم الفطرية .

2-استعراض المراجع

2-1 تأثير التلوث بالفطريات

تتلوث المنتجات الزراعية بأبواغ وكونيديات الفطريات واجزاء الغزل الفطري وذلك من البيئة المحيطة بها وخلال المراحل الانتاجية المختلفة لذا تعد الفطريات من العوامل المحددة لانتاجية المحاصيل الزراعية بدءاً من وجودها في الحقل وبدرجة اكثر خطورة خلال مدة الخزن مسببة خسائر اقتصادية وصحية كبيرة. قسم الباحثان Kaufmann و Christensen (1965) الفطريات التي تصيب المحاصيل الزراعية على ثلاث مجاميع هي:-

1- فطريات الحقل Field Fungi وهي الفطريات التي تصيب الحاصل في الحقل وتشمل بعض انواع *Fusarium*، *Alternaria*، *Cladsporium*، *Helminthosporium*.

2- فطريات الخزن Storage Fungi/التي تنشط في المحاصيل بعد الحصاد وتشمل بعض انواع *Aspergillus* و *Penicillium*.

3- فطريات التعفن Rot fungi / هي التي تسبب تلف المحاصيل مثل *Chaetomium*، *Fusarium*، *Sordaria* وغيرها.

وثبت ان معظم الفطريات المنتجة للسموم هي من نوع فطريات الخزن و القليل منها فطريات التعفن التي لها القدرة على انتاج السموم.

2-2 تاريخ السموم الفطرية

لم تكن السموم الفطرية والحالات الناتجة عنها قبل سنة (1960) مشخصة ومعروفة على المستوى العلمي، بالرغم من حصول العديد من الحالات المرضية المجهولة السبب لسنوات طويلة والتي ادت الى وفيات كثيرة في انحاء عديدة من العالم (Mislivec,1981) وذلك لان هذه الحالات كانت تحصل في فصول معينة من السنة وفي مناطق جغرافية متباعدة ومعزولة ولذلك لم تجلب الانتباه لها كثيرا. وفي سنة (1960) حدثت حالة تسمم وموت لاكثر من (100.000) من طيور الديك الرومي في انكلترا، وسمي هذا المرض في البداية (Turkey x disease) بسبب عدم معرفة مسببه، وادى هذا المرض الى ولادة علم

السموم الفطرية اذ بدأت الدراسات في هذا الموضوع ووجد بان سببه يعود الى تناول هذه الطيور لمسحوق الفستق البرازيلي (Ciegler *et al.*, 1983; Mislivec, 1981) وقد تم الحصول على مستخلص كحولي من هذا الفستق ادى الى حصول حالة تسمم لطيور البط ووجد بان لهذا المستخلص فعالية تالق ويؤدي الى تسرطن كبد الحيوانات، تم عزل الفطر *A. flavus* من عينات الفستق والذي ثبت بانه المسبب لمرض (Turkey x disease) واعطي تسمية Aflatoxins لهذه المواد المتألقة.

لقد اوضح (Detroy واخرون, 1971) ان الصفات التي تتميز بها حالات التسمم الفطري بصورة عامة تشمل:

- المرض الناتج عن التسمم بالفطريات يكون غير معد.
- لا تؤثر العقاقير والمضادات الحياتية في القضاء على المرض.
- التسمم غالبا ما تكون له علاقة ومرتبط بمادة غذائية معينة.
- فحص المادة الغذائية المتسببة عن التسمم يؤدي الى عزل فطر او فطريات ذات نمو متغلب او كثيف

3-2 السموم الفطرية Mycotoxins

هي نواتج ايضية تنتجيا بعض الفطريات القادرة جينيا عمى إنتاج السموم عندما تتوافر لها الظروف البيئية و الغذائية المناسبة , تعد السموم الفطرية من أقوى السموم المعروفة والتي تسبب أمراضا خطيرة بتراكيز ضئيلة تصل إلى 10 جزء في المليون, ويرجع السبب إلى أنها مقاومة للحرلرة بدرجة يصعب إتلافها بواسطة المعاملات الحرارية التقليدية المستخدمة في عمليات التصنيع والطهي، والسبب الثاني أنها تنتشر بسرعة بشكل مستعمرات في الاغذية , لذلك فانازالة الاجزاء الغذائية الملوثة بالمستعمرات الفطرية كما يفعل الكثير من الناس لا يؤدي إلى التخلص الكامل من السموم الفطرية المتكونة في هذه الاغذية ولذلك الافضل تجنب او منع نموالفطريات على الاغذية .هناك العديد من السموم تنتج من الفطريات إلا أن اغلب السموم المهمة هي Aflatoxine Ochratoxin، Fumonisin ، Trichothecen ، Patulin ، Rubratoxine، Citrinin، Zearalenones و Ergot , يمكن أن تقسم الفطريات المنتجة للسموم الى الفطريات الحقلية وهي تمثل الفطريات التي تهاجم او تصيب النبات والمحاصيل الحقلية وتنتج السموم

عليها عند توفر البيئة المناسبة ومن فطريات الحقل المنتجة للسموم *Aspergillus* و *Penicillium* , اما النوع الثاني فيضم فطريات المخازن وهي الفطريات التي تصيب ثمار النباتات والحبوب والاطعمة المخزونة في المخازن وتنتج السموم عليها عند توفر الظروف المناسبة لذلك من درجة حرارة , رطوبة و غذاء من امثلة هذه الفطريات *Alternaria* و *Fusarium* , ان تأثير هذه السموم لا يظهر بسرعة و إنما تكون ذات تأثير تراكمي يظهر بعد 10 إلى 20 سنة من تناول الاغذية الملوثة بها والمشكلة الأخرى أنها لا تستحث الجهاز المناعي في الجسم كي يتم الكشف عنها ولا يوجد لها علاجات دوائية للحد من تأثيرها وبذلك تشكل كارثة صحية على مستوى العالم (عفيفي , 2000 ; سعيد , 2016) .

هناك ما يزيد عن 132 نوعا من السموم الفطرية المعروفة/ التي تصيب اغذية الإنسان بمختلف انواعها لاسيما الاغذية الملوثه بالفطر *Aspergillus* منها ما يسبب تلف الغذاء والبعض الآخر يمرض الإنسان بعدوى عرفت بداء الرشاشيات Aspergillosis عرفت هذه العدوى في الإنسان منذ ما يقارب القرن والنصف وهي تصيب الجهاز التنفسي مؤدية ، كما تسبب جراثيم الفطر المستنشق نوعا من الحساسية , أما هضم نواتجها الايضية فيؤدي إلى التسمم Mycosis كما هناك علاقة وطيدة بين الافلاتوكسين ومرض سرطان الكبد في الإنسان, كما أن السم Xanthogscin المعزول من حبوب الأرز نتيجة لوجود الفطر *Aspergillus* sp. ربما يكون احد مسببات امراض القلب, كذلك يعرف الفطر *Penicillium* بانتاجه كثيرآ من انواع السموم كما ان للسموم الفطرية تأثيرات مرضية خطيرة على الكلى والقلب والكبد (خيلان , 2009 ; الطيار ,2015) .

2-4 مميزات السموم الفطرية

تتميز السموم الفطرية بالعديد من المميزات منها أنها مركبات كيماوية سامة تنتجها الفطريات , معظم السموم الفطرية مركبات هيدروكربونية حلقية أو ذات سلاسل مفتوحة، ذات اوزان جزيئية منخفضة يتراوح ما بين 697 – 100 دالتون لذلك لا تحفز الجهاز المناعي أي لا تكون أجساماً مضادة . نظرا لاختلاف تركيزها الكيميائي فإنها تظهر تاثيرات حيوية مختلفة بعضها قد يسبب تلف الأنسجة ، كبح المناعة وضطرابات عصبية , تذوب بشكل جيد في المذيبات العضوية . تقاوم الانخفاض و الارتفاع في درجات الحرارة , تقاوم التحمل خلال عمليات الهضم التي تحدث في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان تختلف بعضها عن بعض في درجة سميتها اعتمادا على تركيبها الكيميائي وبنائها الجزيئي , اغلب السموم

الفطرية عديمة الرائحة والطعم , تدخل السموم الفطرية للإنسان بطرائق عدة منها الفم من خلال استهلاكيا مع الطعام أو استنشاق الفطريات المنتجة للسموم عن طريق الجهاز التنفسي أو عن طريق الاحتكاك المباشر مع الفطريات المنتجة للسموم (نبهان، 2009 ؛ سعيد،2016)

يعد Ochratoxin من السموم الفطرية الواسعة الانتشار حول العالم وهو يعد من نواتج الاستقلاب الثانوي ينتجه بصورة رئيسية الفطرين *Aspergillus* و *Penicillium* خاصة الانواع *A. ochraceus* و *P. verrucosum* يعد سام لكلى و كبد الانسان و ايضا للحيوانات وقد اقترح انه يكون مرتبطآ بحدوث الفشل الكلوي في الخنازير في شمال اوروبا وفي الانسان ايضا يسبب هذا السم اعتلال الكلى في البلقان و الذي يعد مرض مستوطن في المنطقة ، اكتشف فيها لأول مرة ومن ثم اكتشف في مناطق اخرى , تتراكم السموم الفطرية في طعام الحيوانات و الانسان نتيجة لتوافر للظروف البيئية المناسبة لإنتاجها و كذلك التخزين الغير ملائم للغذاء وسجل وجود سموم Ochratoxin في كل انواع الغذاء مثل الحبوب، اللحوم، الفواكة ، النبيذ، البيرة، القهوة و غيرها(Van Der Merwe et al., 1956; Ringot et al., 2006) .

هناك مستويين للإصابة بالسموم الفطرية هما الإصابة الحادة و التي تحدث نتيجة استهلاك تراكيز عالية من السموم الفطرية لتكون السبب في التهاب الكبد ،والكلى، ونزف أغشية الفم والأمعاء ويمكن أن تؤدي إلى الموت ، و الإصابة المزمنة و التي تحدت نتيجة استهلاك تراكيز واطئة من السموم الفطرية لفترة طويلة ولا ينتج عنها اعراض مميزة ولذلك يصعب تشخيصيا ، يذكر أن بناك العديد من العوامل تساعد على الاصابة بالسموم الفطرية منها نوع السم ,الفطر المنتج له, كمية السم، مدة التعرض لمسم ، عمر وجنس المصاب ، الحالة الصحية للمصاب، طبيعة المادة الغذائية الملوثة بالسم(عفيفي، 2000)

2-5 تصنيف السموم الفطرية

اختلف العلماء في تقسيم السموم الفطرية من حيث تأثيرها على صحة الإنسان والحيوان وبالتالي نستطيع القول أنه لا يوجد معيار محدد لهذا التقسيم فمنهم من قسمها على اساس شدة السمية و منهم من قسمها على اساس الاعراض التي تسببها وبالتالي يمكن ان تصنف هذه السموم حسب الاتي :

- شدة سميتها : و تقسم إلى ثلاثة اصناف هي شديدة السمية، متوسطة السمية و منخفضة السمية
- الاعراض المرضية : وتقسم على ثلاثة اصناف هي مسرطنة , مطفرة و مسببة للتشوهات
- تسببها في حدوث المراض السرطانية : وقسمت على سموم مسرطنة مثل الافلاتوكسين Aflatoxins , سموم محتمل تسببها للسرطان مثل Fumonsins و سموم غير مسرطنة (عبد الحميد ,1996)

2-6 الافلاتوكسينات Aflatoxins

الافلاتوكسينات هي مشتقات للمركب Difuranocoumarine وهي مجموعة مركبات قريبة العلاقة مع بعضها تمثل نواتج ايضية ثانوية تنتج من قبل بعض السلالات الفطرية التي تعود الى *Aspergillus flavus*، *A. parasiticus*، *A.nomius* (Garbutt, 1997).

ويعد الباحث Hartley وجماعته (1963) اول من عزل واستخلص اربعة انواع من الافلاتوكسينات انتجت من قبل *A. flavus* و*A. parasiticus* بشكل بقع متألقه اطلق عليها G_2, G_1, B_2, B_1 اذ تشير الاحرف الى لون التالق الذي تظهره البقع على صفائح الكروماتوغرافي عند فحصها تحت الاشعة فوق البنفسجية، ويرمز الحرف B الى اللون الازرق والحرف G الى اللون الاخضر اما الارقام 1 و2 فترمز الى معامل الترحيل Rate of flow (Rf) التي تظهرها البقع على صفائح TLC (Cocker *et al.*, 1984). كما تم التعرف على نوعين آخرين من الافلاتوكسينات وهما M_1 و M_2 وتسمى سموم الحليب Milk toxins وتنتج من الافلاتوكسين B_1, B_2 على التوالي بعملية Hydroxylation في

الحيوانات الحلوبة (الابقار والاغنام) التي تتغذى على عليقة ملوثة بالافلاتوكسينB_1 ,B_2. تفرز سموم الحليب M_1 ,M_2 بمعدل يقارب (1.5)% من معدل الافلاتوكسين B المستهلك (Forbish *et al.*, 1986).

درست الافلاتوكسينات بعد ذلك بشكل مستفيض وقسمت لحسب درجة سميتها ونسب توافرها في الاغذية والاعلاف اذ مثل الافلاتوكسين B_1 اكثرها خطورة وتواجد بتراكيز اعلى من بقية السموم في التلوث الطبيعي للمنتجات يليه الافلاتوكسين G_1 ثم B_2 وG_2 (المصلح، 1990 Turcksess & wood, 1997 ;). وتم تحديد الصيغة الجزيئية لمركبات الافلاتوكسين B_1 وG_1 من قبل Asao وجماعته (1963) بينما حددت الصيغة التركيبية للافلاتوكسين B_2 وG_2 من قبل Chang وجماعته(1963). وقد وجد ان الفطر *A. flavus* ينتج الافلاتوكسين B_1 وB_2 والفطر *A. parasiticus* ينتج B_1 وB_2 وG_1 وG_2 (Agarwalو Sinclair , 1996). هناك مشتقات هيدروكسيلية لهذه الافلاتوكسينات الرئيسة يمكن ان تنتج من قبل انواع الفطر *Aspergillus* وتسمى الافلاتوكسين B_2a وG_2a (Dutton و Heathcote , 1969) .

2-7 العوامل المؤثرة في انتاج الافلاتوكسينات

هنالك العديد من العوامل البيئية والكيمياوية والبايلوجية التي تؤثر في تخليق وانتاج الافلاتوكسينات فالعوامل البيئية تشمل درجة الحرارة والنشاط المائي (aw) والغازات الجوية وشدة الضوء والاس الهيدروجيني pH ومدة الحضانة. اما العوامل الكيميائية فتشمل نوع المادة الاساس والعناصر الغذائية، المواد المضادة للفطريات Antifungal agents، في حين تمثل العوامل البايلوجية التغيرات في السلالة وكمية اللقاح المستخدم والاحياء المجهرية المنافسة.

2-7-1 العوامل البيئية

ينمو الفطر *A. flavus* والفطر *A. parasiticus* بدرجات حرارية متماثلة اذ ينمو الفطران بمدى حرارة (10-12)ْ م ولغاية (42-43)ْ م ودرجة الحرارة المثلى للنمو تصل الى (32 – 33)ْ م (Ayerst,

1969) اما انتاج الافلاتوكسين فيكون بمدى حرارة (12 – 40)ْم. (Koehler *et al*., 1985; Northolt *et al*., 1977) والمثلى لانتاجه (25 – 35)ْم (Faraj, 1990). ويتغير انتاج الافلاتوكسينات بتغير درجات الحرارة ففي درجة الحرارة المنخفضة (15 – 18)ْم ينتج الافلاتوكسين G, B بكميات متساوية تقريبا، في حين يكون انتاج الافلاتوكسين B عند درجات الحرارة المعتدلة (25–28)ْم هو السائد على حساب الافلاتوكسين G (Ayerst, 1969). ان الانخفاض في انتاج الافلاتوكسين G_1 يعزى الى زيادة عمليات الهدم Catabolism للنوع G_1 على درجات الحرارة العالية (1979، WHO ; الدليمي، 1988).

كما يمثل النشاط المائي مقياساً للماء الحر غير المرتبط في المادة الغذائية الضروري لنمو الفطر وقد يعرف ايضا على انه نسبة ضغط بخار الماء للمادة الاساس الى ضغط بخار الماء النقي عند درجة الحرارة والضغط الجوي نفسهما وهو من العوامل البيئية المؤثرة في نمو الفطريات وانتاج السموم الفطرية (Ayerst, 1969).

من المعروف انه عندما يكون النشاط المائي منخفضا فان الماء سوف يرتبط عن طريق الاملاح، السكريات، البروتينات والمواد المذابة الاخرى، ولهذا السبب فان نمو الفطريات لا يحدث عندما لا يكون الماء متيسراً (Northolt *et al*., 1976). يقل انتاج الافلاتوكسين او يتوقف عند قيم النشاط المائي دون (0.85) ومع ذلك فان نمو الفطريات يمكن ان يحدث على قيم نشاط مائي اقل من ذلك وهذا ما لوحظ بالنسبة لنمو الفطر *A. flavus* اذ وجد ان اقل نشاط مائي ينمو فيه الفطر هو (0.78) (Davis & Diener, 1970). اما الفطر *A. parasiticus* فان اقل نشاط مائي لنموه (0.84) ولانتاج الافلاتوكسين من قبله (0.87)، بالرغم من ذلك فان النشاط المائي الامثل لانتـاج الافلاتوكسينات بوساطة كل من الفطر

A. flavus و *A. parasiticus* يكون بمدى مقداره (0.95) و(0.99) على التوالي (Koehler *et al*., 1985; Northolt *et al*., 1977 ; Faraj , 1990).

من العوامل البيئية الاخرى المؤثرة في انتاج الفطريات للسموم الفطرية هو الهواء وبالاخص الاوكسجين لانه من المعروف ان الفطريات هي احياء هوائية ولكن العلاقة المطلوبة بين الاوكسجين وثاني اوكسيد الكربون تختلف باختلاف الانواع والسلالات، وقد وجد ان التراكيز المنخفضة من CO_2 مفيدة

لانبات الابواغ وتخليق البروتينات، الحوامض النووية والمركبات الوسطية التي تتكون في اثناء سلسلة حامض الكربوكسليك الثلاثي Tri Carboxylic Acid (TCA). ولقد وجد ايضا بان CO_2 يحفز تكوين المركب Malonyl – COA بما في ذلك عملية تخليق الحوامض الدهنية كما هو الحال في المركبات الطبيعية الاخرى وبضمنها المركبات الحلقية. بالرغم من ذلك فان تراكيز CO_2 التي تزيد عن (20)% تثبط انبات ابواغ الفطريات بينما توقف النسبة التي تزيد عن (10)% انتاج السم (Tabak & Cock, 1968). وقد وجد ان انخفاض تركيز الاوكسجين الى اقل من (20)% او زيادة تركيزه الى (90)% او اعلى يثبطان تكوين الافلاتوكسين (Shih & Marth, 1973, Landers *et al.*, 1967). ويؤدي غاز النتروجين الى تثبيط تكوين الافلاتوكسين (Doyle & Marth, 1978).

كما يعد الضوء عاملاً اساسآ لبعض انواع الفطريات لغرض تخليق او اكمال تكوين السبورات، كما ان الضوء يؤثر في كل من النمو الخضري وانتاج الافلاتوكسين من قبل الفطريات المنتجة للسموم في الاوساط الغذائية السائلة والصلبة فقد يكون مثبطا او محفزا تبعا للتأثيرات الكيموضوئية في الوسط الغذائي (Carlile, 1970). وقد تمت دراسة تأثير الضوء في انتاج الافلاتوكسين بواسطة الفطرين *A. flavus* و*A. parasiticus* من قبل الباحث Bennett وجماعته (1978)، اذ ذكروا ان انتاج الكونيديات لكل من الفطرين المذكورين يحصل في الضوء والظلام غير انها تكون اكثر غزارة عندما تتعرض الفطريات للضوء.

كما ان المنطقة الزرقاء للضوء الابيض تكون اكثر تأثيرا في احداث الاستجابة الضوئية للفطريات (Bennett *et al.*, 1981) وان الاستجابة الضوئية للفطريات تتأثر بدرجة الحرارة والتي تؤثر في كمية الافلاتوكسين المنتجة، اذ وجد ان انتاج الافلاتوكسين يثبط بواساطة الضوء على درجات الحرارة العالية والواطئة ولكن ليس على درجات الحرارة المتوسطة ما بين (20–25)°م وتؤدي الكثافة الضوئية ايضاً دورا مهما في هدم الافلاتوكسين فقد ذكر الباحث Nkama وجماعته (1987) ان الزيادة في هدم الافلاتوكسين B_1 يتناسب طرديا مع الزيادة في الكثافة الضوئية.

ظهر ان للاس الهيدروجيني في وسط النمو تأثيرا قليلاً في العمليات الايضية الاولية للفطريات ولكنه اظهر تأثيراً واضحاً في انتاج الافلاتوكسين (Moreau & Moss, 1979). ينمو الفطر *A. parasiticus* في مدى واسع من الاس الهيدروجيني مع نمو امثل يحدث في pH مقداره (4.0–5.0) بالرغم من ذلك فقد ذكر الباحثان Lie & Marth (1968) ان للفطر *A. flavus* و *A. parasitcus*

القابلية للنمو في مدى من الاس الهيدروجيني مقداره (1.7–9.3) مع نمو امثل يحدث في pH يكون ما بين (3.4–5.4) ومع ذلك فان انتاج الافلاتوكسين لا يتم على كل مستويات الـ pH (Northolt 1977 *et al.,*) اذ ينتج من قبل *A. parasitcus* ضمن مدى pH (3.0–8.0) وقيمة مثلى للانتاج عند pH (6.0) (Buchanan & Ayres, 1976).

كما اظهرت الدراسات ان الوقت اللازم لانتاج اعلى كمية من التوكسين تختلف تبعا للسلالة المستعملة والوسط حيث ذكر (Davis *et al.*, 1966) ان اعلى انتاج للتوكسين كان بعد (5–12) يوم تلاه انخفاض في معدل التوكسين. اما علاقة درجة الحرارة بالوقت فقد لوحظ ان اعلى انتاج كان بعد (15) يوم بدرجة (20)ْ م و(11) يوم بدرجة (30)ْ م (Diener & Davis, 1967).

وقد اشار Jarvis (1971) الى ان اعلى انتاج كان بدرجة (24)ْ م خلال (4–7) ايام معتمدا على طبيعة الوسط. وفي الحرارة الواطئة لوحظ انه يحتاج الى مدة حضانة طويلة للحصول على كمية عالية من الافلاتوكسين بواسطة الفطر *A. flavus* (Vanwalbeek *et al.*, 1969; Sornson *et al.*, 1967).

2–7–2 العوامل الكيمياوية

لقد وجد ان للمادة الاساس علاقة كبيرة بتخليق الافلاتوكسين المنتج وان المادة الاساس التي لها تراكيز عالية من الكاربوهيدرات والاحماض الدهنية تعزز من انتاج الافلاتوكسين كما هو ملاحظ في المستويات العالية من الافلاتوكسين الناتج من جوز الهند الطازج (Arseculeratne *et al.*, 1969). وجد بان الفطر *A. flavus* يمكن ان يستفيد من الكميات القليلة من الكاربوهيدرات لانتاج كمية من الافلاتوكسينات (Park & Bullerman, 1983)، بالمقابل فان المواد الاساس ذات الكميات العالية من البروتينات وكميات قليلة من الكاربوهيدرات لا تدعم انتاج الافلاتوكسين من قبل الفطر *A. parasiticus*، قد يعود ذلك الى انه اذا ما زادت مدة الحضن على درجة (25)ْ م فان البروتين سوف يتحلل الى احماض امينية بسبب الانزيمات المحللة للبروتين – Protease المفرزة من قبل الفطر وهذه الاحماض تعد ايضا

مصدرا للنتروجين ومصدرا للكربون فيما لو كانت مصادر الكربون الاخرى محددة، ولكن عند استخدام الفطر لهذه الاحماض الامينية مصدرآ للكاربون فان تحرر كميات من الامونيا يؤثر في انتاج الافلاتوكسين وتعد الامونيا من المصادر النتروجينية الاخرى سريعة التأيض وهذا يؤدي الى تثبيط انتاج الافلاتوكسين (Diew & Demain, 1977).

كذلك يتأثر تخليق الافلاتوكسين وانتاجه بتركيب العناصر الغذائية للمادة الاساس فالسكريات البسيطة مثل الكلوكوز والفركتوز والسكروز هي المفضلة بوصفها مصادر للكربون لعملية التخليق الحيوي للافلاتوكسينات بواسطة الفطر *A. flavus* (Davis & Diener, 1968) كما اظهر بان الزايلوز والمانوز يحفزان على انتاج الافلاتوكسين بواسطة الفطر *A. Parasiticus*. ويعد الزنك اساسياً لنمو الخلايا وعمليات الايض وهو ضروري واساسي لعملية التخليق الحيوي للافلاتوكسينات ويعتقد ان تأثير الزنك هو تنظيم تكوين المركبات الوسطية والتي تستخدم في عملية التخليق الحيوي للافلاتوكسينات. ومن المغذيات المؤثرة في هذا الاتجاه ايضا مجموعة فيتامين B باستثناء الرايبوفلافين / والتي تؤثر كذلك في تخليق الافلاتوكسين (Basappa *et al.*, 1967). وفي صدد انتاج الافلاتوكسين مختبريا على الاوساط الزرعية هناك العديد من الدراسات التي اجريت في مدة مبكرة لانتاج الافلاتوكسين على الاوساط الطبيعية من قبل العديد من الباحثين، فقد استعمل الفول السوداني ، والحنطة ، والذرة ، والشوفان ، والشيلم ، والرز، وفول الصويا ، وجوز الهند من قبل (Cutuli *et al.*, lemke *et al.*, 1989 ; Davis *et al.*, 1987 ; 1991; النزال ، 1996).

اما انتاج الافلاتوكسينات على الوسط الصناعي او شبه الصناعي وجد انه يكون مفضلا على الوسط الطبيعي وذلك لسهولة الاستخلاص والتنقية وكذلك لدراسة فسلجة تكوين الافلاتوكسين. ان الدراسات الاولية على الوسط الصناعي الغاطس اجريت على وسط Czapek's dox media (Delongh *et al.*, 1964; Nesibitt *et al.*, 1962; Sargeant *et al.*, 1961).

كما تمكن بعد ذلك (Codner *et al.*, 1963) من اضافة شراب منقوع الذرة (34) غم / لتر الى وسط Czapek's dox media وكانت كمية التوكسين المنتجة (100–200) ملغم /لتر باستعمال الفطر *A. flavus*. كما وجد ان اعلى انتاج للافلاتوكسين B باستخدام تركيز (8)% من شراب منقوع الذرة باستعمال الفطر *A. parasiticus* (Schroeder, 1966)، فضلا عن ذلك فقد لوحظ ان اعلى انتاج

للتوكسين كان في وسط Czapek's dox media الحاوي على (20%) سكروز و(2)% مستخلص الخميرة (Davis *et al.*, 1966). ويعتبر الوسط الاساسي المستخدم في الدراسات اللاحقة من قبل العديد من الباحثين والذي يتكون من (2)% مستخلص الخميرة و(15)% سكروز (YES) وسطاً محفزا لانتاج الافلاتوكسين.(Davis *et al.*, 1966; الجراح 1988; Cutuli *et al.*, 1991 ; حسين , 1995 ; Fente *et al.*, 2001). وقد تم استخدام هذا الوسط ايضا من قبل الهيتي ومجيد (1998) في دراسة تاثير اليوريا في نمو الفطر *A. flavus* وانتاجه للافلاتوكسين.

3-7-2 العوامل الحياتية

يحدد نوع الفطر نوع السم المنتج من قبله فالفطر *A. flavus* وجد انه ينتج نوعين من الافلاتوكسينات B_1, B_2 في حين ينتج الفطر *A. parasiticus* الافلاتوكسينات B_1, B_2, G_1, G_2 (Hesseltine *et al.*, 1985) فضلا عن ذلك وجد ان سلالة الفطر والنمط الجيني genotype للسلالة هو المسؤول عن تحديد الافلاتوكسين المنتج(Moss & Smith, 1985).

تؤثر الفطريات المنافسة (الاحياء المجهرية) في انتاج الافلاتوكسين من خلال التنافس على المادة الاساس ومن خلال انتاج المواد الايضية المثبطة. ومن الجدير بالملاحظة انه بينما ينمو الفطر *A. parasiticus* جيدا في حالة وجود كل من الفطريات *A. candidus* و*A. chevalieri* فان انتاج الافلاتوكسينات سوف يثبط (Boller & Schroeder, 1974) كما يمكن للفطر *A. niger* ان يقلل الاس الهيدروجيني لوسط النمو الى (3.0) من خلال انتاج حامض الستريك حيث تكون قيمة الاس الهيدروجيني هذه كافية لتثبيط تكون الافلاتوكسينات. كما ان الفطريات المنافسة يمكن ان تؤيض كل الافلاتوكسينات المنتجـة، وتبدل ايض الفطر *A. flavus* وتتنافس على المواد الاساسية المهمة لانتاج الافلاتوكسينات او قد تجعل الظروف ملائمة لتكوين او تخليق الافلاتوكسينات(Moss & frank, 1985).

ان عدد الابواغ المستخدمة لتنمية الفطر يؤثر في التخليق الحيوي وانتاج الافلاتوكسينات. وذكر الباحث Jinks (1969) بان انتاج الافلاتوكسين في وسط التخمر يعتمد على تفرعات الغزل الفطري والاختلافات الاخرى. وان زيادة عدد الابواغ يقلل من انتاج الافلاتوكسينات بسبب التنافس فيما بينها على

المواد الغذائية وقلة هذه المواد، والعكس صحيح، فان قلة عدد الابواغ يؤدي الى زيادة انتاج وتخليق الافلاتوكسين وتخليقه (Sharma *et al*., 1980). اذ وجدت الدراسة التي قام بها Karunaratne & Bullerman (1990) ان حجم اللقاح الامثل لتحفيز انتاج وتخليق الافلاتوكسين يصل الى (10^6) بوغ /مل.

2-8 تواجد الافلاتوكسينات في الاغذية

يعد الفطر *A. flavus* احد انواع الفطريات الواسعة الانتشار في الطبيعة ويوجد في الهواء والتربة ولكونه واحداً من فطريات الخزن وبسبب قابليته الانزيمية العالية فانه يؤدي دوراً في تلف العديد من الاغذية فضلا عن قابليته لافراز عدد من السموم ومنها الافلاتوكسينات. واول الاغذية التي عرفت انها تتلوث بهذه السموم هي الحنطة، والذرة ، والرز، والشعير، والنخالة ، والطحين ، والبقوليات كفول الصويا وفستق الحقل والسمسم والدخن (الهيتي، 1992). كما وجد في الطحين والخبز (الجنابي، 1998) والفواكه الطرية والمجففة ومشتقاتها كالعصير والمربيات فضلا عن التوابل والعقاقير المستخلصة من الاعشاب والادوية المتسخلصة من الفطريات (الهيتي، 1992). ونظرا لخطورة تلوث الاغذية والاعلاف بهذه المركبات السامة وضعت المنظمات العالمية حدودا للنسب المسموح وجودها من الافلاتوكسين في المواد الغذائية بـ (10) مايكروغرام/كغم من عينة لا يقل وزنها عن (3)كغم (WHO/FAO, 1990). اما منظمة FDA الامريكية فقد حددت نسبة AFB_1 المسموح بها بـ (20) نانوغرام/غم في كل الاغذية البشرية، اما في اعلاف المجترات تصل الى (300) مايكروغرام / كغم وفي الحليب يكون مستوى الافلاتوكسين المسموح به (0.5) جزء بالبليون (Turkess & Wood, 1997).

2-9 التأثيرات السمية للافلاتوكسينات في الانسان والحيوان

حظيت الافلاتوكسينات باهتمام كبير جدا بسبب تأثيرها الفعال في الانسان والحيوان بشكل عام (Ellis *et al.*, 1991). والافلاتوكسينات هي من السموم الحادة والمزمنة Acute & Chronic، تحث على تكوين الأورام ، والسرطان والتأثير الاكثر اهمية لهذه السموم في الانسان هو تأثيراته المثبطة للمناعة فضلاً عن سرطان الكبد (Groopman *et al.*, 1991) لاسيما الافلاتوكسين B_1 الذي يعتبر من مسببات سرطان الكبد اذ انه يسبب سرطان خلايا الكبد في العديد من انواع الحيوانات فضلا عن الانسان (Massey *et al.*, 1995)

وقد وجد ان هناك علاقة تعاونية Synergistic بين بعض الامراض وسموم الافلاتوكسين ومنها مرض التهاب الكبد الفايروسي Hepatitis B virus، حدوث هذا المرض ووجود الافلاتوكسين يؤدي الى سرطان الكبد حيث وجد ان Hepatitis B virus والافلاتوكسين هما مسرطنات Carcinogenic ووجودهما يؤدي الى زيادة احتمالية حصول سرطان الكبد. اكتشفت هذه الحالة نتيجة حدوث مرض Hepatitis في الهند سنة (1974) والتي ادت الى اصابة (400) شخص ووفاة (100) منهم وكان سببها مؤكدا هو وجود الافلاتوكسين ووجدت علاقة موجبة بين كمية الافلاتوكسين سواء الماخوذة من عينات الاغذية المعروضة في الاسواق او المطبوخة من جهة ووبائية سرطان الكبد من جهة اخرى وذلك في عدة دراسات اجريت في الاقطار الافريقية والاسيوية, فضلاً عن سرطان الكبد الذي يسببه الافلاتوكسين هناك العديد من الامراض منها سرطان القولون وسرطان الكلى في الفئران ، والقردة ، والبط. ان الاستهلاك القليل والمنتظم للافلاتوكسين يؤدي الى تحول بطيء للغذاء واكتساب وزن قليل للحيوان وانتاج قليل للحليب في الابقار (Bhatnagar., 1992).

لقد تم التعرف على سمية الافلاتوكسين عن طريق اعطاء حيوانات التجارب علائق ملوثة بالافلاتوكسينات ويلاحظ التأثيرات التي يحدثها على هذه الحيوانات بعد تشريحها، كحدوث حالات نزفية وموت للانسجة في الكبد واحتقان الدم في الكلى وحدوث تكاثر سريع للخلايا الظهارية الموجودة في قناة الصفراء (Yabe & Hamasaki, 1993).

في دراسة مقارنة خارج الجسم الحي لمعرفة تأثير الافلاتوكسين على التركيب الدقيق لخلايا الكبد لكل من الانسان والفئران والجرذان، وجد حدوث تغيرات في التركيب الدقيق لانوية خلايا الكبد بعد تعريضها للافلاتوكسين B_1، وان معظم التغيرات التي حدثت للانوية كانت للمكونات النووية التي تشبه في ذلك

خلايا كبد الجرذان المعرضة للافلاتوكسين B_1 في داخل الجسم الحي (Cole *et al.*, 1986). وتختلف جرع الافلاتوكسينات المميتة باختلاف انواع الافلاتوكسين اذ ان AFB_1 هو الاكثر خطورة يليه AFG_1، اما الافلاتوكسين B_2 وG_2 فانهما اقل خطورة من AFB_1، اما الافلاتوكسين M_1 فيعد مسبباً سرطانيا كامنا وخطيرا (Smith *et al.*, 1994; Cocker *et al.*, 1984). ويمكن تحديد المستوى السمي لهذه المواد باعتماد قيم LD_{50} للافلاتوكسين B_1 في انواع مختلفة من الحيوانات/التي تتراوح بين (0.37) ملغم / كغم من وزن الجسم بالنسبة لافراخ البط الى (9.0) ملغم / كغم للجرذان Mice (Ciegler *et al.*, 1983).

الخلاصة

اجريت الدراسة الحالية للتحري عن تلوث بعض الخلطات العشبية المستعملة لمرضى السكري بالفطريات وسمومها وشملت الدراسة 6 عينات اخذت من مدينة بعقوبة مركز محافظة ديالى كانت تعد الاكثر تداولا واستهلاكا من قبل المرضى . اجريت الدراسة في مختبر الفطريات التابع الى قسم علوم الحياة – كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى . اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان جميع العينات المأخوذة كانت ملوثة بالفطريات بنسبة 100 % , وكانت نسبة تلوثها بالخمائر 80 % , وكان مجموع اعداد العزلات الفطرية 126عزلة فطرية .

كما اظهرت النتائج ان نسبة 100% من العينات كانت ملوثة بالسموم الفطرية والتي تضمنت سموم الافلاتوكسين G2,G1,B2,B1 و الاوكراتوكسين A وكان الافلاتوكسين B1 قد وجد في جميع العينات بنسبة تراوحت (من 0.900 الى 6.383) gm/ng , كذلك الافلاتوكسين G2 ظهر في جميع العينات المدروسة وتراوحت كميته (من 1.988 الى 3.197) gm/ng , كما سجلت الدراسة وحود السموم افلاتوكسين B2,G1 والاوكراتوكسين A بنسب متفاوتة بين العينات كما سجل توافرها في بعض العينات واختفائها في اخرى اذ كانت نسبة وجود الافلاتوكسين B2, G1 و الاوكراتوكسين A هي 66.66 % من مجموع العينات .