دراسة لأهم الأعفان المرضية المعزولة من الحليب ومنتجاته في بغداد مع دراسة تجريبية لأمراضية عفن *Aspergillus fumigatus* في الفئران .

بشرى إبراهيم القيسي
فرع الأمراض-كلية الطب البيطري / جامعة بغداد

جنان خالد
معهد بحوث التغذية

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لمعرفة انواع ونسب انتشار الأعفان في الحليب الخام ومنتجاته في بغداد مع دراسة امراضية عفن *Aspergillus fumigatus* التي شكلت النسبة الاعلى للعزل . شملت الدراسة فحص (130) عينة تضمنت (30) عينة حليب مجفف ، (30) عينة غذاء اطفال ، (30) عينة حليب خام (40)عينة منتجات البان تضمنت لبن ناشف، لبن رائب ، جبن طري ، جبن مطبوخ ، قيمر، قشطة وزبد.

أظهرت النتائج ان نسبة الأصابة بالاعفان في الحليب الخام 100 % وفي منتجات الألبان 65 % وعلى النحو التالي :

من الحليب الخام عزلت الأنواع *A. Niger* 16.2 % و *A.fumigatus* 15 % و 13.7 % *A.flavus* و *Pencillum spp.* 12.5 % ومن منتجات الألبان عزلت الانواع 26.9 % *A.fumigatus* و *Geotrichum spp.* 23 % و *A. Niger* 11.5 % .

أجريت دراسة أمراضية عفن *A. fumigatus* والذي كان اعلى نسبة للعزل حيث استخدم (30) فأراً ذكراً سويسرياً قسمت الى اربعة مجاميع على النحو الأتي : المجموعة الأولى حقنت داخل الخلب بجرعة (0.2) مل من عالق الأبواغ لعفن *A.fumigatus* بتركيز 1 X 510 بوغ / مل وحقنت المجموعة الثانية (سيطرة) داخل الخلب بجرعة (0.2) مل من المحلول الفسلجي المعقم ، أما المجموعة الثالثة جرعت بالفم بجرعة (02) مل من عالق الابواغ لنفس العفن بتركيز 1 X 10 5 بوغ / مل وجرعت المجموعة الرابعة (السيطرة الثانية) بجرعة 0.2 مل من المحلول الفسلجي المعقم . قتلت بواقع (2) فأر للمجاميع (3,1) و (1) فأر للمجاميع (4,2) وحسب المدد بالاسابيع 1 و 2 و 3 و 4 .

سجلت الاعراض السريرية المتمثلة بصعوبة التنفس في فئران المجموعة الأولى من الأسبوع الثاني وعزل العفن من الدم والاعضاء الداخلية في الاسبوع الثالث ولم يسجل عزل العفن في المجموعة الثالثة وأوضحت التغيرات المرضية التنكس والنخر مع وجود العقيدات المتكونة من بؤر الأورام الحبيبية المنتشرة في نسيج الكبد والرئة والكلية والطحال مع نزف وتجلطات الدماغ والأمعاء .

Study of important moulds isolated from milk and its products in Baghdad – with experimental study the pathogenesis of *Aspergillus Fumigatus* moulds in mice

Bushra.I.Al-Kaisie
Depatment of Pathology –College of Veterinary Medicine Baghdad University

Jinan Khalid
Institute of Nutritional Resurch

Summary

This study was designed to isolate and identify the type of moulds and their percentage of distribution with pathological study of highly moulds isolated from (130)samples were included in this study with divided into (30)samples dried milk,(30).samples baby food ,(30)samples raw milk , (40) samples dairy products .

The results revealed the percentage of infection according to total count of isolation in raw milk were 100 % dairy product 65 %. The most common fungi isolated from raw milk were *Asp.niger* of 16.2 % *Asp. fumigatus* of 15 % *Asp.flavus* of 13.7 % *Pencillium* spp. 12.5 % . From dairy products were isolated with percentage of *Asp. Fumigatus* 34.9% *Geotrichum* spp . of 23 % ,*Asp. nager* of 11.5 % . Pathological study was carried out to investigate the clinical signs with grossly and Histopathological changes inoculated with most pathogenic moulds *Asp. fumigatus* (30)male white swiss mice were used in this study and divided into four groups . The first group were injected I/P with 0.2 ml of *Asp. fumigatus* containing 1X105 spores / ml , 4th group (control)given orally 0.2 ml of PBs.Two mice from each treated groups and one from each control group were scarified on week (1,2,3,4) .the clinical manifestation of the 1st group were at 2nd week showed dyspnea .Mould isolated from blood and internal organs at third week , with no isolation from 3rd group. The Histopathological observations showed presence of degeneration , necrosis and diffused granuloma in liver, lung , spleen , kidney and hemorrhage with thrombosis in brain and intestine .

المقدمة

يعد الحليب من الاغذية الضرورية والتي يستهلكها جميع الناس في مختلف البلدان (1) كما يعد الحليب احد المجموعات الغذائية الرئيسية التي تحتوي على البروتينات والدهون والفيتامينات والاملاح (2) ، ونظراً لاحتواء الحليب على رطوبة عالية وحموضة معتدلة اصبح من انجح الاوساط لنمو مختلف الكائنات المجهرية ومنها الخمائر والاعفان مسبباً بذلك مشاكل أقتصادية لسرعة تلفة فضلاً عن المشاكل الصحية بسبب حالات التسمم الغذائي والسرطانات لافرازها السموم ولاسيما الافلاتوكسينات (3).

تمتاز الفطريات بانها ممرضات انتهازية فهي تستغل أي خلل في مناعة الجسم مسببةً اصابات في الجلد واعضاء الجسم . تعد الرشاشيات *Aspergillosis* من الفطريات الناقصة Imperfect fungi والتي تتكاثر لاجنسياً وتشكل نسبة 16.4% من حالات الاجهاض في الابقار (4) . كما تحدث اصابات ثانوية في حالات العلاج الطويل بالمضادات الحياتية او الكورتيزونات او بعد عمليات زرع الاعضاء والقلب المفتوح محدثةً ورماً فطرياً Aspergilloma مع تلف الرئة (5).

تتميز الاصابة السبحية للفطر بوجود بؤر حبيبية تحتوي على خلايا الحمضات والعدلات والعملاقة مع التليف وتكون مشابهة لافة السل (6)، وفي حالة دخولة عن طريق الفم نتيجة غزو الخيط الفطري تخترق النسيج المعوي الى المجرى الدموي بعد اختراق جدار الوعاء الدموي مكونة الخثر الدموية مع افات حبيبية في الدماغ حيث ترافق الرشاشيات مرضى زرع النخاع (7) ومرضى قسطرة الوريد (8).

المواد وطرق العمل

1. **الاوساط الزرعية:** استخدمت الاوساط الزرعية التالية :

Sobouraud Dextrose agar, Meat extract agar, Corn meal agar
Zapek dox agar, Sugar broth

حضر مختبرياً sugar assim liation agar حضر وسط مرق السكريات : حسب طريقة (9)

2. **الصبغات** : استعملت الصبغات الاتية في التجربة :

Gram stain ,Indian Ink, Lactophenol cotton blue ,PAS

3. **المحاليل** وشملت :

a. محلول داريء الفوسفات الملحي والمحلول الملحي الفسلجي حضر حسب طريقة (9)

b. محلول ثلاثي سترات الصوديوم 2% ك حضر حسب طريقة (10).

4. **طريقة جمع العينات** : جمعت النماذج للمدة من بداية شهر تشرين الثاني 2003 الى نهاية كانون الثاني 2004 وبواقع (130) عينة .

a: نماذج الحليب الخام Raw milk :- جمعت بحاويات معقمة مباشرة من ضرع الحيوان بعد ان عقم بالكحول 70% وبواسطة استعمال كفوف معقمة واهمال القطرات الاولى وبعدد (30) أنموذجاً . جمعت (6) عينات من قرى الذهب الابيض والفضيلية والراشدية والدورة وابي غريب.

b: نماذج منتجات الالبان: وضعت العينات في اكياس عقمة من بولي اثلين وبكمية (250) غم للنماذج المحلية وبعبواتها الاصلية سعة 500 و 100 و250 غم بالنسبة للمصنعة وبعدد (40) أنموذجاً ، حيث تم جمع (5) نماذج من كل من اللبن الناشف ، اللبن ارائب ، الجبن الطري ، الجبن المطبوخ ، القيمر المحلي ، القشطة والزبد. جمعت العينات من الاسواق المحلية (الكسرة ، الكاظمية ، الاعظمية ، باب المعظم ، المحمودية ، ابي غريب وجميلة).

c: نماذج العينات المستوردة : شملت عينات من الاجبان والحليب المجفف واغذية الاطفال حيث تكون محفوظة في عينات بلاستيكية او معدنية محكمة الغلق وبكمية 450 و 500 و 250 غم للعينة الواحدة على التوالي .

5 . **عزل الفطريات** : استعملت طريقة Pour Plate لعزل الفطريات : أذ يوزن (11) غم من العينة الصلب و (12) مل من السائلة وتوضع في دورق يحوي على (99) ما من PBS ، اما الجبن فيؤخذ

(11) غم من العينة ويوضع في كيس من البولي اثلين المعقم وفي جهاز Stomacher لمدة (5) دقائق الى ان يتحول الى سائل حليبي الشكل وبعد اجراء التخافيف العشرية على المحلول المذكور

انفاً يؤخذ من كل تخفيف زرع لطبقين وتحضن بدرجة 22م° لمدة 7 ايام . (1).

6. **تحضير العالق البوغي لعفن *Asp. fumigatus*** : حسب طريقة (11)لقحت الانابيب المائلة الحاوية على وسط السابرود دكستروز أكار بعزلات عفن الرشاشيات وحضنت بدرجة 25 م ° لمدة (10) ايام اضيف (5) مل من المحلول الفسلجي الحاوي على بعض قطرات من محلول (80) Tween بتركيز 0.01 % الى الأنبوب الحاوي على العزلات ثم فصل النمو بواسطة الناقل الجرثومي وجمع في قنينة زجاجية معتمة سعة (20)مل ومررت الأبواغ باستعمال محقنة معقمة وضع في قعرها كمية من الصوف الزجاجي للحصول على العالق البوغي ووضعت الانابيب الحاوية على الراشح في جهاز الطرد المركزي لمدة (5) دقائق الى الراسب (5) مل من Salin المعقم وحفظ بالثلاجة .

7. **حساب تركيز العالق البوغي** : تم حساب عدد الابواغ / مل من العالق حسب طريقة (12) باستعمال Newbaur hemocytometer chamber باستعمال الماصة الخاصة لحساب كريات الدم

البيض ، أخذت قطرة من المزيج المحضر مسبقاً على Chamber slide وجرى حساب عدد الابواغ بتطبيق المعادلة :

عدد الابواغ في 4 مربعات X 50 حضر عالق العفن بتركيز نهائي 1× 5 10

8. تصميم التجربة: استعمل (30) فأراً ذكرسويسرياً تراوحت اعمارهم 6–8 اسابيع ، قسمت بصورة عشوائية الى اربعة مجاميع وكالاتي:

a. المجموعة الاولى استعملت فيها (10) فئران حقنت في غشاء الخلب بجرعة (0.2) مل من عالق الابواغ الحاوي على العفن بتركيز 5 10 ×1 بوغ / مل .

b. المجموعة الثانية : ضمت (5) فئران سيطرة للمجموعة الاولى حقنت (0.2) مل من PBS في الخلب

c. المجموعة الثالثة : استعملت فيها (10) فئران جرعت بالفم باستعمال مجرعة خاصة (0.2) مل من عالق الابواغ الحاوي العفن بتركيز 5 10 ×1 بوغ / مل

d. المجموعة الرابعة : ضمت حيوانات السيطرة للمجموعة الثالثة وبمعدل (5) فئران جرعت (0.2) مل من PBS .

قتلت الفئران عن طريق التخدير بالايثر وبواقع (2) فار للمجاميع (1و3) و(1) فأر للمجاميع (2و 4) وبعد (1و2 و3و4) اسابيع من المعاملة بلعفن .

9. معايير الدراسة:

a. <u>الاعراض السريرية</u> : سجلت العلامات السريرية للفئران لمجموعة المعاملة والسيطرة قبل اوقات القتل او الهلاك .

b. <u>عزل العفن</u> : بعد قتل الفئران للمجاميع الاربعة وحسب المدد المذكورة اخذت عينات بطريقة معقمة من الاعضاء :دم القلب ، الكبد ، الطحال، الرئتين ، الكلى ، الدماغ ، والامعاء . وزعت العينات على وسط SDA واجريت الفحوصات التاكيدية على النمو الفطري (الصبغ بصبغة الكرام ، صبغة اللاكتوفينول الزرقاء ، الفحوصات الكيمياوية الحياتية) .

c. <u>الفحوصات المرضية</u> :

1. <u>الفحص المرضي العياني</u> : لوحظت التغيرات المرضية العيانية في الاعضاء الداخلية للفئران المحقونة والمجرعة بعفن *Asp.fumigatus* ومجاميع السيطرة وحسب مدد القتل ودرست التغيرات المرضية في الاعضاء المذكورة اعلاه من حيث الشكل ، الحجم ، اللون، التوزيع والمكونات.

النتائج

اولاً: نتائج العزل الفطري

a. نوع العينات المفحوصة : جدول رقم (1) يبين عدد العينات الموجبة والسالبة لكل نوع من انواع العينات التي جمعت حيث بلغ عدد العينات الكلي (130) عينة كان الحليب الخام قد سجل اصابة 100%.

b . انواع الاعفان المعزولة : كانت النسبة الاعلى لعفن *Asp. fumigatus* ثم *Asp. niger* وبعدها *Asp. flavus* يليها *Alternari* و *Giotrichum* وثم *Mucor* وبعدها عفن *I.shonilleni* و *I.mentigrophyte* جدول رقم (2) .

c . عزل الاعفان من الحليب الخام :- كان مجموع العينات التي فحصت (30) عينة جميعها موجبة للفحص الفطري وبنسبة 100% جدول (2) ومعظم العينات اظهرت اصابة مشتركة باكثر من عفن وكانت النسبة اعلى لعفن *Asp. fumigatus* .

d.عزل الاعفان من منتجات الالبان :- عدد العينات الكلي لمنتجات الالبان شملت (40) عينة قسمت (35) محلي و (5) عينات مستوردة وكان عدد العينات المحلية الموجبة (26) عينة وشكلت اعفان Asp fumigatus اعلى النسب واقل نسبة .Rhizopus spp ، جدول (3).

e . عزل الاعفان من اللبن الناشف والرائب:- اختيرت 10 عينات (5) لكل نوع واظهرت جميع العينات نتيجة موجبة للاعفان ولاكثر من نوع وكان عفن Giotrichum spp اعلاها نسبة 30% ثم عفن Asp. fumigatus جدول رقم (3) .

f . عزل الاعضاء لعينات الجبن الطري والمطبوخ : اجري الفحص على (10) عينات (5) لكل نوع وقد اظهرت النتائج وجود ثلاث عزلات من الاعفان في الجبن الطري بينما اشارت النتائج وجود الاعفان في عينة واحدة من الجبن المطبوخ وبنسب متساوية جدول رقم (2).

g . عزل لاعفان لعينات الزبد: كان عدد العينات المفحوصة (5) عينات من الزبد المحلي كانت جميعها موجبة للفحص حيث عزلت (5) انواع من الاعفان سجلت *Asp. fumigatus* اعلى نسبة من الاصابة . جدول رقم (4).

h .العزل الفطري لعينات القيمر : فحصت (10) عينات قسمت لى (5) عينات من القيمر المحلي والقيمر المصنع (القشطة) واظهرت النتائج عزل الفطريات من جميع نماذج القيمر المحلي وعدم وجود اصابة فطرية في القشطة وعزل نوعان من الاعفان *Asp. fumigatus* و *Asp. bsedia* جدول (2).

جدول (1) يبين نوع العينات المفحوصة والنسب المئوية للاصابة

نوع العينة	المجموع	الموجب+	النسبة المئوية	النسبة المئوية للاصابة مقارنة

			للاصابة	بالعينات الموجبة الكلية
حليب مجفف	30	–	0	–
غذاء الاطفال	30	–	0	–
حليب خام	30	30	100	43.4
منتجات البان	40	26	65	37.6
المجموع	130	56	40.58	

جدول (2) انواع واعداد والنسبة المئوية لعزلات الاعفان في الحليب الخام والجبن والقيمر المحلي

نوع العفن	حليب خام		الجبن				القيمر المحلي	
			جبن طري		جبن مطبوخ			
	العزلات	%	العزلات	%	العزلات	%	العزلات	%
A.niger	13	16.2	1	33.3	1	100		
A.fumigatus	12	15	1	33.3	-	-	2	66.6
A.flavus	11	13.7						
Pencillium spp	10	12.5						
Alternaria spp	9	11.2	1	33.3				
Cladosporium spp	5	6.2						
Mucor spp	3	3.7						
Geotrichum spp	3	3.7						
A.terrus	3	3.7						
Absidia spp	1	1.25						
T. schonilleni	1	1.25						
T. mentagrophy	1	1.25						
المجموع	80		3		1		3	

جدول (3) انواع واعداد والنسبة المئوية لعزلات الاعفان في منتجات الالبان ،اللبن الناشف، لبن رائب والزبد

نوع العفن	منتجات الالبان		لبن ناشف		لبن رائب		زبد	
	العزلات	%	العزلات	%	العزلات	%	العزلات	%
A.fumigatus	9	34.9	2	20	2	40	2	33.3
Geotriccum spp	6	23	3	30	2	40	1	16.6
A. niger	3	11.5	1	10	-	-	-	-
A. flavus	2	7.6	1	10	1	20	-	-
Alternaria	2	7.6	1	10	-	-	-	-
Absedia	2	7.6	-	-	-	-	1	16.6
Mucor spp	2	3.8	1	10	-	-		
Cladosporium spp	1	3.8	1	10	-	-		
Rhizopus spp	1		-	-	-	-		
Total	28		10		5		6	

ثانيا: عزل العفن من الاعضاء الداخلية :

جدول (4) يوضح الاعضاء الداخلية التي عزلت منها الأعفان المحقونة لحيوانات التجربة

جدول (4) يوضح الاعضاء الداخلية التي عزلت منها عفنAsp. fumigatus في الفئران

الاسابيع	المجموعة	الدم	الكبد	الرئة	الكلية	الطحال	الدماغ	الامعاء
الاول	الاولى	–	–	–	–	–	–	–
	الثالثة	–	–	–	–	–	–	–
الثاني	الاولى	–	–	–	–	–	–	–
	الثلثة	–	–	–	–	–	–	–
الثالث	الاولى	+	+	+	+	–	–	–
	الثالثة	–	–	–	–	–	–	–
الرابع	الاولى	+	+	+	–	+	–	–
	الثالثة	–	–	–	–	–	–	–

ثالثاً : نتائج الاصابة التجريبية:-

أ. الاعراض السريرية: اظهرت فئران المجموعة الاولى من الاسبوع الاول الخمول وقلة الشهية وفي الاسبوع الثاني ظهرت اعراض تنفسية شملت سرعة التنفس وعدم انتظامه ، في الاسبوع الثالث استمرت الاعراض التنفسية اما في الاسبوع الرابع ازدادت الاعراض التنفسية شدة وتميزت بصعوبة التنفس مع زيادة الالعاب وخروج سوائل من الانف وتدمع العين وحينها اظهرت الفئران المجموعة الثالثة التي جرعت العفن بالفم اعراضاً سريرية اقل شدة وكانت غير واضحة في الاسابيع الاولى بعد التجريع ولوحظ خمول الفئران في الاسبوع الاخير ، ولم تسجل هلاكات في هذه المجموعة .

ب. الفحوصات المرضية (العيانية والنسيجية):

المجموعة الاولى :

<u>الاسبوع الاول بعد الحقن بالعفن</u> :

- **الكبد :** تضخم الكبد وتدور حافاتة وظهور بؤر نخرية . نسيجياً: لوحظ تنكس في بعض الخلايا.
- **الرئـة:** شاحبة اللون ، كما اوضح الفحص النسيجي وجود النفاخ والوهط الرئوي مع تثخن جدار الاسناخ الرئوية بسبب احتقان الشعيرات الدموية السنخية والخزب مع وجود خثر دموية منفردة ومنتشرة في نسيج الرئة كذلك ارتشاح العدلات والخلايا اللمفية في الحواجز بين الاسناخ والنسيج الخلالي للرئة .
- **الكلى:** اظهر النسيج تغيرات تنكسية مع الكلاء وتفجي الهيولي مع توسف ظهارة النبيبات الكلوية ، احتقان الشعيرات الدموية في اللمة الكبيبية وبين النبيبات الكلوية .
- **الطحال :** اظهر النسيج ارتشاح العدلات في اللب الابيض مع وجود جسيمات الطحال والنزف واحتقان اللب الاحمر ونفاد لمفي شديد .**الدماغ:** لوحظ تغلظ الانوية وزيادة حمضة الهيولي مع تغيرات تنكسية ونخرية لخلايا الدامغ اضافة الى احتقان الاوعية الدموية مع الخزب .
- **الامعاء:** لم تلاحظ تغيرات نسيجية مرضية مهمة تذكر .

<u>الاسبوع الثاني</u> :

- **الكبد :** كبر حجمة مع شحوب اللون واصفراره وتدور حافاته مع وجود مناطق نخرية غير منتظمة الحافات . نسيجياً ظهرت المحفظة منكمشة ومتليفة في اغلب الحالات وتعاني خلايا الكبد في بعض المناطق من الضمور خاصة تحت المحفظة ومتورمة في ناطق اخرى ويكون الهيولي في بعض الخلايا ذو حبيبات حامضية . وجود نخر تجبني مع زيادة في الاورمات الليفية ، صورة رقم (1) .**الرئة:**كانت التغيرات المرضيه مشابه لما ذكر في الاسبوع الاول الا انها اكثر شده

- **الكلى:** لوحظ تكفف خلوي شديد حول الاوعية الدموية من خلايا العدلات والبلاعم والبزما واللمفية مع وجود اورام حبيبية صغيرة متعددة ومنتشرة في النسيج الخلالي للكيسة مكونة مع مركز نخري محاط بالخلايا اللمفية في والبلاعم الكبيرة والظهارنية والبلازما ، صورة رقم (3).
- **الطحال:** مشابة للاسبوع الاول مع وجود الاورام الحبيبية والهيموسدرية.
- **الدماغ** : نسيجياً : تغيرات اكثر شدة من الاسبوع الاول مع تكفف خلوي لمفي حول الاوعية الدموية وتجمعات من الخلايا النجمية في متن الدماغ .
- **الامعاء:** انتعاف المخاطية مع نخر الزغابات والارتشاح بالخلايا اللمفية والخزب.

<u>الاسبوع الثالث</u>:

- **الكبد:** وجود بؤر داكنة اللون : نسيجياً نخر بؤري متعدد ومتمثل بالافة الورمية الحبيبية مع وجود الانسجة الضامة الليفية **الرئة:** عكست الشكل الانموذجي للورم الحبيبي من مركز نخري تجبني محاط بجميع انواع الخلايا المزمنة ونسيج ليفي ، صورة رقم (3).
- **الكلى** :كانت التغيرات مشابهة للسابق (الاسبوع الثاني).
- **الطحال** : سجل التهاب الطحال الحبيبي القيحي .
- **الدماغ:** فضلاً عما ذكر سابقاً لوحظ تنكس خلايا بركنجي والخزب حول الاوعية الدموية والعصبونات متمثلة بالحيزات الفارغة .
- **الامعاء:** مشابهة للاسبوع الثاني .

<u>الاسبوع الرابع</u>: جميع التغيرات مشابهة للاسبوع الثالث ولكنها اكثر شدة مع تقرح ونزف مخاطية الامعاء .

<u>المجموعة الثالثة:</u>

<u>الاسبوع الاول</u>:

- **الكبد** : كبر حجمة وتدور حافاتة وشحوب لونة مع ملمس دهني نسيجياً: تورم الخلايا الكبدية وضيق الجيبانيات او اختفاءها مع تنكس دهني واحتقان وتجلط الاوردة المركزية.
- **الرئة:** ظهور عقد متعددة على سطح الرئة . نسيجياً لوحظ النفاخ والخزب وتكفف الخلايا اللمفية حول الاوعية الدموية وفي النسيج الخلالي المركزي.
- **الكلى والطحال:** مشابهة للاسبوع الاول في المجموعة الاولى.
- **الامعاء** :انتفاف شديد للطبقة المخاطية مع الارتشاحات كثيفة لخلايا اللمفية في مخاطية وتحت المخاطية الامعاء مع النزف لكافة طبقات الامعاء.

الاسبوع الثاني والثالث: كافة التغيرات مشابهة للاسبوع الثاني للمجموعة الاولى ، اما الامعاء اضافة لما ذكر لوحظ بؤر نخرية وقرح بسيطة من طبقات الامعاء مع ارتشاح الخلايا اللمفية والبلاعم الكبيرة لكافة الطبقات.

الاسبوع الرابع :

الكبد: شحوبة وتدور حافاتة مع وجود اعداد كبيرة من الخلايا العملاقة ذات الجسم الغريب محاطة لبؤر الورم الحبيبي.**الرئة والكلى** : شحوب لونهما وتضخمهما مع وجود عقيدات منتشرة على سطحها صورة رقم (2) .**الدماغ** : نزف حبري منتشر على سطح الدماغ.**الامعاء** : نزف حبري في مخاطية وتحت المخاطية الامعاء مع احتقان الاوعية الدموية .

المناقشة

لقد كانت نسبة الاصابة في الحليب الخام 100% وباكثر من عفن واحد وذلك يعود الى تعرض الحليب الى العديد من الملوثات الخارجية مصدرها الحيوانات والبيئة (14). ان عزل عفن ارشاشيات بنسبة عالية يتفق مع (15) لقدرتة على المعيشة بمدى حراري عالي قد يصل (50) م° ولكونها من الاعفان الانتهازية ذات المتطلبات الغذائية القليلة ويستطيع بدرجات حرارة ورطوبة مختلفة اضافة الى التكاثر اللاجنسي الى انتاج الاف من البذيرات المزدوجة العنبارية Diploid Conidia (9). اما انتشار باقي الاعفان يعود الى وجود اصابة جلدية في الحيوان مما يؤدي الى انتشار السبورات على الجلد ووصولة الى الحليب (12). ان ارتفاع نسبة الاعفان في منتجات الحليب من الجبن الطري والقيمر والزبد واللبن يدلل على حجم التلوث الكبير لها من مصادر الحليب الذي لايعامل حرارياً بشكل جيد او عن طريق البادىء او استعمال ادوات واواني غير نظيفة او عرضية المكشوف في الاسواق لمختلف الملوثات وهذا يتفق مع (16) اذ بينوا ان تلوث الجبن يحدث من مصادر عديدة تشمل البادىء ، الملح ، الخميرة ، المعدات ، المحيط الخارجي ، الغبار.

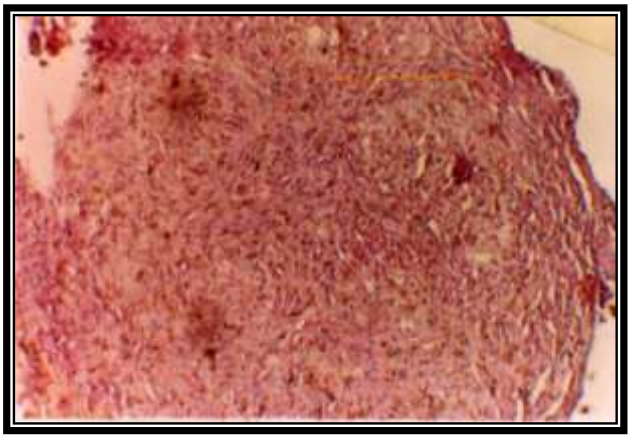
ان عزل عفن *Asp. fumigatus* بنسبة عالية من اللبن الحامض واللبن الحلو والجبن الطري والزبد والقيمر يعود الى تحملة درجات حرارة المتفاوتة والحموضة والرطوبة وهذا يتفق مع (17) ، كما ان عزل عفن *Giotrichum spp.* يتفق مع (18) بانة من الاعفان التي تتواجد في منتجات الالبان ولاسيما الجبن وخاصة في فرنسا .

امراضية العفن *Asp .fumigatus* :-

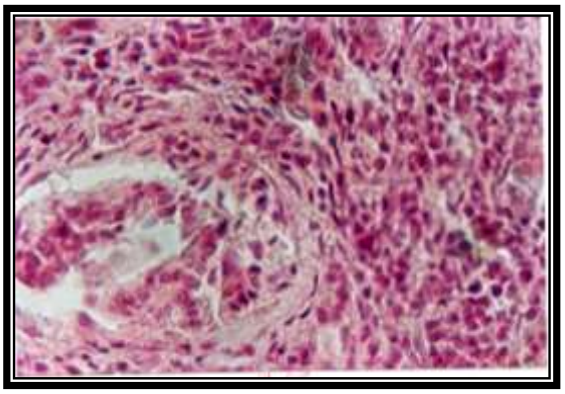
ان امراضية العفن تختلف بين العزولات اعتماداً على وجود جزء من التركيب الوراثي مسؤول عن الامراضية بحجم 0.95 Kb وتسمى 0.95 Kb positive strain (19) ومن ملاحظة التغيرات العيانية والنسيجية الواضحة نستنتج ان الفترة المستعملة كانت ممرضة ولها القدرة على

مهاجمة الانسجة من خلال امتلاكها عوامل الضراوة (19) جعلة من الفطريات المهمة في الانسان والحيوان . ان ظهور الاعراض التنفسية في سرعة لتنفس وعدم انتظام وزيادة شدتة في الاسبوع الرابع يتفق مع (22) لقابلية العفن على افراز السموم وحدوث خلل في مستقبلات Toll- Like receptor (TLRs) تعمل على زيادة الحساسية للاصابة بعفن *Asp .fumigatus* مسببة اورام حبيبية تؤدي الى عدم كفاءة الحويصلات وحدوث العلامات التنفسية المذكورة .ان عدم عزل العفن من الدم من الاسبوعين الاول والثاني للمجموعة الاولى وكافة الاسابيع للمجموعة الثالثة يعزى الى طريقة الحقن حيث ان التجريع بالفم يؤدي الى بطء انتقال العفن في الدم والاعضاء الداخلية مع تحفيز الجهاز المناعي للفئران .

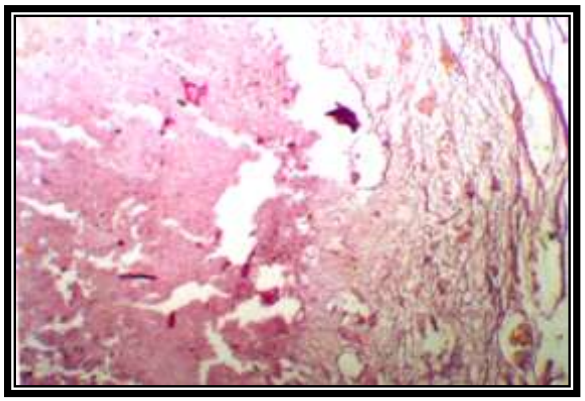
ان ظهور علامات النخر في تسيج الكبد والرئة والكلية والطحال يعود التاثير العفن المباشر لامتلاكة عوامل الضراوة ومنها الانزيمات الحالة كانزيم Protenase و Elastase مسببة نخر النسيج المصاب (21). ان وجود العقيدات على الاعضاء الداخلية والمتمثلة نسيجياً بالورم الحبيبي يعود الى عوامل الضراوة للعفن وافرازها للانزيمات السامة وذات الفعل النخري والمحفز لمناعة الجسم في سحب الخلايا اللالتهابية كاللمفية والبلاعم والعملاقة .ان للعفن تاثير كبيراً في الدماغ اذ ان الاحتقان والنزف وعلامات الالتهاب تتفق مع (20) حيث وجد ان نسبة الاصابة في الدماغ 41%.



صورة رقم(1) مقطع نسيجي لكبد احد فئران المجموعة الاولى الاسبوع الثاني بعد الحقن بعفن *A. fumigatus*. لاحظ النخر التجبني محاط بخلايا ظهارانية تكاثر الاروماة الليفية والاوعية الدموية (H&Ex 400) .



صورة رقم (2) مقطع نسيجي لكلية احد فئران المجموعة الثالثة الاسبوع الرابع بعد الحقن بعفن *A. fumigatus* . لاحظ : التكفف الخلوي الشديد حول الكبيبة متكون من خلايا العدلات والبلاعم الكبيرة واللمفية والبلازمية (H&Ex400)



صورة رقم (3) مقطع لرئة احد فئران المجموعة الاولى الاسبوع الثالث بعد الحقن بعفن *A. fumigatus* . لاحظ : الشكل الانموذجي للورم الحبيبي المتكامل مع احاطتة بجميع انواع الخلايا وحيدة النواة ونسيج ليفي (400× صبغةH&E)

References

1. Eck,A. and Gillis,J.C. (2001).Cheese making 2nd Ed. Lavoisier Publishing ISBN U.K.
2. Smolin , L.A. and Grosvenor , M.B. (2000). Nutrition Science and Application 3rd Ed. Saounders College publishing New York .
3. Marth , E.H. (1978) .Standard methods for examination of products 14th Ed. Am. Public Health Association Washington, D.C.
4. Hillman ,R.B. and McEntec, K. (1969). Expermintal studies of bovine mycotic placentitis .J. Vet. 59: 289-302.
5. Crameri, R. (1999). Epidemiology and molecular basis involvement of Aspergillus fumigatus in allergic disease contribution. Microbiology : 44-56.
6. Touza, R.F. ; Martinez,V.C.; Alonso, A.J. and Mendez, P.M. (2000). The clinical response of interferon – gamma in apateint with chronic graulomatous disease and brain abscess due to Asp. Fumigatus
7. Herbart,H.;Bollinger,C.; Fisch,P. and Meisner,C. (2002). Analysis of T-cell response to Asp. Fumigatus antigen in healthy individuals and patient with hemolytic malignancies blood. Dec.,15:100(13):4521-8.
8. Patterson, T.F.; Kirkpatrick,W.R. and White, M. (2000). Invasive Aspergillosis Disease spectrum, treatment paractices and autcomes. 13: Aspergillus study group. Medicine Baltimor Med. Line 2001.

9. العاملي ، زينة طارق عبد الوهاب (2001) . عزل وتشخيص بعض الفطريات المسببة للاصابة الجلدية في الحيوانات والعاملين عليها ومعالجتها باستخدام ستخلصات الحبة السوداء والثوم . رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد .
10. القطبي ، سحر حسن علي .(1999) . دراسة عددية تشخيصية للفطريات الموجودة في الاجبان المحلية الطرية والمطبوخة. رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد .
11. سماكة، حيدر محمود علي .(2000) . دراسة بعض الفطريات الجهازية في الابقاروالاغنام في محافظة بغداد . رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري /جامعة بغداد.
12. ياسين ، شيماء نبهان (2003) . دراسة عن الفطريات المشتركة المسببة للامراض الجلدية في الانسان والابقار مع انتاج لقاح ضد فطر Trichophyton verrecasum في الابقار. رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد .
13. السامرائي ، خلود وهيب .(1997). المحتوى الفطري وسم السترنين في الذرة الصفراء المحلية وتاثيراته في الدواجن. رسالة دكتوراه / كلية العلوم. جامعة بغداد.
14. الذهيبات ، محمد شمخي جبر (1992). تاثير الفطريات وبعض الجراثيم الدالة على الحالة الصحية للحليب الخام . رسالة متجستير / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد .
15. Moreou,C.(1979). Mould Toxins and Food. Wiely- Inter Since Publication .Chichestr. New York.
16. Babara,M. and Tony,C.D. (2000). Microbiological Safety and Quality of food. Vol(1).Aspen Publisher. Inc. Gaithersburg . maryland U.K. 536-47.
17. Ab-dul-Khier, F.A.; EL-Bassiony, T.; Abd-EL-Hamid, A. and Mustafa, M.K. (1985). Enumeration of mould and yeast in dried milk and ice cream product. Assim. Vet. Med. J., 14 (88) : 71-9.
18. Marcellino, N.; Beuvier,E.; Grappin,M. and Benson, D.R.(2001). Diversity of Geotrichum candidum strains isolated from traditional cheese marketing fabrications in Farance. Appl. Environ. Microbial. Oct., 67(10): 4752-9.
19. Mondon, P.; Dechamps,C. Dodille,A. and Grillot,R. (1996). Variation in virulence of invasive pulmonary Aspergillosis .J. Med. Microbial., 45 : 186-91.
20. Skov, M. ; Koch, C. ; reimert, C.M. and L. K. (2000). Diagnosis of allergic bronchopulmonary Aspergillosis in cystic fibrosis. Allergy Jan., 55 (1): 50-8.
21. Kwon- Chung, I. And Benet, J.E. (1992). Dermatophytosis in medical mycology lea and Febiger . Philadelphia: 105-161.
22. Luna,L.G.;Manual of hisological staining of the Armed forces Institue of the pathology .3rd U.S.A. Megrew Hill Bock.