وزاره التعليم العالي والبحث العلمي

جامعه القادسية

كليه الطب البيطري

تأثير السموم الفطرية على صحة الحيوان

بحث مقدم

إلى مجلس كليه الطب البيطري/جامعه القادسية وهو جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية

من قبل

اسراء سعيد رضا

بإشراف

م.م محمد عبد العباس

2015 م

1436هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

(فتعالى الله الملك الحق ولا تعجل بالقرآن من قبل أن يقضى أليك وحيه وقل رب زدني علما)

صدق الله العلي العظيم

سورة طه: من الآية ١١٤

إقرار المشرف

اشهد ان هذا البحث كان بإشرافي في كلية الطب البيطري - جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية.

التوقيع

الأسم / محمد عبد العباس

المرتبة العلمية / مساعد مدرس

اقرار رئيس الفرع

نؤيد بان الطالبة اسراء سعيد رضا قد اتمت منجزات بحث تخرجها وترشحه للمناقشة .

مدرس المادة

م.د مثنى هادي حسين

رئيس فرع الطب الباطني

م.د أسعد جاسم

الاهداء

الى الخمسة الذين تحت الكساء وبحبهم الى الله اتقرب

النبي والمرتضى وفاطمة والحسن والحسين (ع)

الى من اهدى الي سنين عمره ..... وعاند الهم بصبره

والدي

الى من زرعتني في الحياة بذرة ..... وسقتني من دمها قطرة فقطرة

امي

الى سندي وعصمتي ويشدو ازري في محنتي

اخوتي واخواتي

اسراء

شكر وتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله الذي جعل الحمد مفتاحاً لذكره وخلق الأشياء ناطقة بحمده وذكره والصلاة والسلام على نبينا محمد واله وصحبه المنتجبين. لا يسعني بعد ان انتهيت من كتابة بحثي هذا الا ان اتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية الطب البيطري وفرع الصحة العامة والتدريسي المشرف م.م محمد عبد العباس لتفضلة باقتراح موضوع البحث والما بذله من جهود مخلصة ومتابعة مستمرة مما كان له عظيم الاثر في اتمام هذا البحث.

كما اتقدم بوافر شكري وعظيم امتناني الى التدريسي د. بهاء أمين للمساعدة التي أبداها.

اسراء

الخلاصة

استهدفت هذه الدراسة استعراضاً لأهم أنواع السموم الفطرية التي تؤثر على صحة الحيوان لما لهذه السموم من تأثير مباشر على الحيوان ويطلق على حالات التسمم بالسموم الفطرية مصطلح Mycotoxicosis حيث تسبب الحالات الحادة التلف المباشر للأعضاء الحيوية كالكبد والكلية من خلال التعرض للجرع العالية نتيجة تناول الأعلاف الملوث بالسموم أو التأثير التراكمي بسبب التعرض لجرع واطئة لفترات طويلة ، وتتعرض معظم أنواع الحيوانات لحالات التسمم بالسموم الفطرية وخاصة الدواجن والإبقار والأغنام ، وقد تم التركيز على بعض السموم الأكثر تأثيراً وانتشاراً وخاصةً سموم الأفلا ،الإوكرا ،التریاكوثسين ، والزيرالينون ، وخاصة من خلال التأثيرات على مستوى الانتاج الحيواني فعند حدوث حالات من التسمم بمعدلات عالية من السموم الفطرية فهذا يؤدي إلى تأثيرات كبيرة على صحة الحيوانات وأدائها وإنتاجيتها إضافة لحصول ارتفاع في معدل الهلاك مما يسبب خسائر مادية كبيرة ، كما أن حالات التسمم بمعدلات واطئة من السموم الفطرية قد تزيد من عوامل الإجهاد الأخرى وحصول التثبيط المناعي مما يزيد من إمكانية إصابتها بالأمراض إضافة لانخفاض الأداء التناسلي وبالتالي تكون تأثيرات السموم الفطرية المزمنة أكثر ضرراً من تأثيراتها الحادة من ناحية إنتاجية الحيوانات وبالتالي زيادة الخسائر الاقتصادية.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة	أ
	المحتويات	ب - ت
١	الفصل الأول المقدمة	١
٢	الفصل الثاني استعراض المراجع	٣
٢-١	المواصفات العامة للسموم الفطرية	٣
٢-٢	الخصائص الفيزيائية والكيميائية للسموم الفطرية	٣
٢-٣	تقسيم وتصنيف السموم الفطرية	٤
٢-٤	أنواع السموم الفطرية :	٥
٢-٤-١	سموم الأفلا Aflatoxins	٥
٢-٤-٢	سموم الأوكرا Ochratoxins	٧
٢-٤-٣	سم الزيرالينون Zearalenone	٨
٢-٤-٤	سم الترايكوثسين (Trichothecene	٩
٢-٥	الطرق المستخدمة في الكشف عن تواجد السموم الفطرية	٩
٢-٥-١	الطرق السريعة	٩
	طريقة أعمدة الألفة المناعية	٩
	طريقة الأعمدة الدقيقة	٩
	طريقة قياس الإدمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم	١٠
٢-٥-٢	الطرق التقليدية	١٠
	تقنية استشراب الطبق الرقيقة	١٠
	تقنية الإستشراب الغازي	١٠
	تقنية الاستشراب السائل عالية الأداء	١٠
٢-٥-٣	الطرق البحثية	١١
	الطريقة الإنزيمية	١١
	طريقة الترحيل الكهربائي الشعيري	١١
	طريقة المتحسسات الحيوية	١١
٢-٦	طرق تقليل وإزالة تلوث الأغذية والأعلاف بسموم الأفلا	١٢
٢-٦-١	الطرق الفيزيائية	١٢

٢-٦-١-١	الفصل الفيزيائي	١٢
٢-٦-١-٢	التثبيط الحراري	١٣
٢-٦-١-٣	الإشعاع	١٣
٢-٦-١-٤	الاستخلاص بواسطة المذيبات	١٣
٢-٦-٢	الطرق الحيوية	١٤
٢-٦-٢-١	استخدام الأحياء المجهرية	١٤
٢-٦-٢-٢	الحماية الكيميائية	١٤
٢-٦-٣	الطرق الكيميائية	١٥
٢-٦-٤	استخدام المواد الحاجزة للسم	١٦
٣	**الاستنتاجات والتوصيات**	
٣-١	الاستنتاجات	١٧
٣-٢	التوصيات	١٧
	المصادر	١٩

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

١- المقدمة :-

إن مصطلح السموم الفطرية mycotoxins لم يعرف إلا في عام 1962 عندما سجل حدوث مرض في جنوب بريطانيا سبب هلاك أكثر من 100000 من أفراخ الرومي بالإضافة إلى هلاكات أخرى في أفراخ البط والدجاج مسببا خسائر اقتصادية كبيرة وحيث انه لم يتم التعرف على المسبب لذا عرف المرض بـ (Turkey-X-disease) وكانت هذه الأفراخ قد تم تغذيتها على كسبه فستق الحقل المستوردة والتي تبين فيما بعد أنها كانت ملوثه بالفطر *Aspergillus flavus* ومن ثم تم تشخيص مواد متألقة fluorescent عاليه السمية عرفت بـ (Aspergillus flavus toxin) وقد اختصرت هذه التسمية إلى (A-fla-toxin) (1).

وتعرف السموم الفطرية بأنها نواتج أيضية ثانوية سامه تفرزها بعض أنواع الفطريات والتي تسبب تأثيرات ضاره على صحة الإنسان والحيوان لما تسببه من خسائر اقتصاديه (2). ومن أهم أجناس الفطريات المنتجة لهذه السموم والتي تعرف بـ Mycotoxigenic fungi هي Aspergillus, Fusarium ,Claviceps, Neotyphodiom, وتعد سموم الأفلا Aflatoxins (AF) التي يتم إنتاجها من قبل العفن *A. Flavus* و*A. parasiticus* من بين أهم هذه السموم وأخطرها لما تسببه من تأثيرات مرضيه خطيرة وخسائر اقتصاديه اضافه إلى سرعه انتشار وتواجد هذه السموم في الأعلاف لكونها أوساطاً ملائمة لنمو الأعفان المنتجة لهذه السموم بسبب احتوائها على العناصر الغذائية الضرورية كالمواد البروتينيه والكاربوهيدراتيه ولاسيما عند توفر الظروف الملائمة كالحرارة والرطوبة وبالتالي زيادة التلوث. (3)

وبالاضافه إلى سموم الأفلا هنالك سموم الأوكرا Ochratoxin (OT) ،الترايكوثسين(T2) Trichothecene’، الزيرالينون Zearalenone (ZEN) والفيومونسين Fumonisin (F).(4) وتتعرض معظم أنواع الحيوانات لحالات التسمم بالسموم الفطرية وخاصة الدواجن والأغنام والأبقار مسببة تأثيرات مرضية

شديدة نتيجة للتثبيط المناعي Immunosuppression بالإضافة إلى تأثيراتها على الأعضاء الحيوية للحيوان مما يؤثر على القدرة الإنتاجية لهذه الحيوانات مسببة خسائر اقتصادية كبيرة (5).

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Review of Literatures

٢- استعراض المراجع Literature Review

٢-١ المواصفات العامة للسموم الفطرية :

تتميز السموم الفطرية بالمواصفات التالية :

- إنها ذات أوزان جزيئية منخفضة.
- لها القدرة على الوصول إلى الهدف (منطقة التأثير داخل الجسم).
- تكون سرعة التخلص من عن طريق الجهاز الهضمي أقل من سرعة امتصاصها م نقبل الجسم ولا يمكن التخلص منها بسهولة عن طريق عملية الإخراج أو الإبراز.
- لها القابلية على التجمع في الأنسجة المختلفة (تأثير تراكمي)(6).

٢-٢ الخصائص الفيزيائية والكيميائية للسموم الفطرية :

١- مركبات غير بروتينية تعطي ألواناً متألقة عند فصلها على صفائح الاستشراب chromatography وتعريض الصفائح إلى الأشعة فوق البنفسجية فمنها ما يعطي تألقاً (وميضاً) أزرقا ًمثل سموم الأفلا أو تألقاً أخضراً مثل سموم الأوكرا.

٢- تذوب بشكل جيد في المذيبات العضوية كالفينولو لكن ذوبانيتها محدودة بالماء.

٣- تحتوي في تركيبها الكيميائي على حلقة اللاكتون.

٤- لا تتحلل، وتقاوم درجات الحرارة العالية كدرجة الغليان والبسترة.

٥- تختلف عن بعضه االبعض في درجة سميتها اعتمادًا على تركيبها الكيميائي وبنائها الجزيئي بالإضافة إلى تأثير عوامل عدة أهمها ، نوع الوسط الغذائي وتركيبه الكيميائي فضلاً عن تأثير منافسة الأحياء الأخرى وتأثير درجة الحرارة والرطوبة ، وكمية الأوكسجين وثاني أوكسيد الكاربون (6).

٢-٣ تقسيم وتصنيف السموم الفطرية :

سوف نعتمد في تقسيم أوتصنيف السموم الفطرية على أساس ما تسببه من ضرر إلى ما يلي:

١- سموم كبدية التأثير Hepatotoxins :

وهي السموم التي تؤثرعلى الكبد وتتلفه أوتسبب له السرطان مثل سموم الأفلا وسموم الأوكرا

٢- سموم كلوية Nephrotoxin:

وهي السموم التي تؤثرعلى الكلية وتسبب سرطان الكلية والفشل الكلوي مثل سموم السيترينين والجليوتركسين.

٣- سموم قلبية Cardiotoxins :

وهي سموم تصيب القلب مثل سموم إكزانثواسكينو حامض الكاروليك

٤- سموم معدية معوية Gastrointestinal toxins :

كالتريك وثيسينات والجليوتوكسين.

٥- **سمو مجلدية Dermatotoxins:** ومنها البسور الينات.

٦- **سموم عصبية Neurotoxins :** مثلسموم الأفلا وروبراتوكسين.

٧- **سموم رئوية Pulmonarytoxins :**مثل ايبوميانول.

٨- **سموم أجهزة بناء الدم Hematopoietic toxins:** مثل اللوبينوزيس.

٩- **سموم مسرطنة Carcenogenictoxins :**مثل سموم الأفلا والباتيولين

١٠- **سموم مطفرة Mutagenictoxins :** مثلحامض البنيسيليك ولوتوسكيرين.

١١ - **سموم مشوهة خلقياً Teratogenictoxins :**مثل سموم الأوكرا(5).

٢-٤ أنواع السموم الفطرية :

٢-٤-١ سموم الأفلا Aflatoxins :

تعد سموم الأفلا من بين أقوى السموم المسرطنة الموجودة في الطبيعة التي قد يتعرض لها الإنسان والحيوان وتأثير هذه السموم يختلف حسب النوع ، العمر، الجنس والتغذية العامة ويعد الكبد العضو المستهدف الأول (7). وهي عبارة عن نواتج أيضية ثانوية Secondary metabolites تنتج بواسطة بعض أنواع الأعفان الحقيقية التي تعود لجنس الرشاشيات Aspergillus حيث تنمو هذه الأعفان على بعض المحاصيل الزراعية والأغذية التي لها قابلية التأثر بالغزو الفطري (8). وتوجد أربعة أنواع رئيسية من سموم الأفلا تقوم بإنتاجها أعفان الـ Aspergillus هي B1 ، B2 ، G1وG2 حيث تشير هذه الرموز إلى لون توهج هذه الأنواع عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية (UV) حيث يظهر النوع B باللون الأزرق بينما النوع G يكون بلون اخضر ويعد كل من سمي الأفلا G1 وG2 مشتقات ثنائية الهيدروجين Dihydro-derivatives لكل من سمي الأفلا B1وB2 على التوالي (9).بالإضافة إلى وجود نوعين آخرين من النواتج الأيضية وهما سما الأفلا M1 و M2 اللذان ينتجان من عملية الـ hydroxylation (إضافة مجموعة hydroxyl) لسمي الأفلا B1 وB2 على التوالي في الكبد (10). واللذان يتواجدان في حليب الماشية التي تناولت علائق حاوية على سما الأفلاB1 وB2 (11).وتدل الأرقام 1و2 التي توضع إلى جانب الحرف الذي يشير إلى نوع سم الأفلا على مواقع فصل هذه السموم على ألواح الفصل الخاصة بطريقة استشراب الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography (TLC)(12).

ويتم إنتاج سموم الأفلا من قبل أنواععديدة من أعفان الـ Aspergillus خاصة النوعين *A.flavus* و*A.parasiticus*والتي هي من الأعفان الشائعة الحدوث والتي تعد من أكثر الملوثات للحبوب الداخلة في تكوين أعلافالدواجن (13).ويقوم العفن *A.flavus* بإنتاج سمي الأفلا B1 وB2 فقط في حين أن العفن *A. parasiticus*يستطيع إنتاج الأنواع الأربعة الرئيسية(14).ويعد سم الأفلا B1 أكثر هذه الأنواع خطورةً بسبب كونه أكثر إحداثاً لحالات السرطان من بين بقية أنواع سموم الأفلا ويمتاز بسميته العالية للإنسان والحيوانات مسبباً حالات التهاب الكبد الحاد وسرطان الخلايا الكبدية

إضافة إلى حدوث التثبيط المناعي حيث يكون للسم القابلية على التراكم في الكبد نتيجة استهلاك الغذاء الملوث (15). وتشمل العوامل التي تؤثر على إنتاج سموم الأفلا العوامل الفيزيائية ،الغذائية و الحيوية (16). ومن بين العوامل الفيزيائية درجة الحرارة ونسبة الرطوبة وفعالية الماء water (activitya_w) إضافة إلى تأثير التهوية والإضاءة وقد وجد أن درجة الحرارة المثلى لإنتاج سموم الأفلا تتراوح مابين (٢٢ - ٣٧°م) وأفضل نشاط مائي مابين (٠,٩٢ – ٠,٩٦) (17).

يطلق على حالات التسمم الناجمة عن التعرض لسموم الأفلا مصطلح Aflatoxicosis والتي تصيب كلاً من الإنسان والحيوان وتشمل سموم الأفلا B1 ، B2 ، G1 ، G2 و M1 إضافة إلى النواتج الأيضية الأخرى وتكون حالات التسمم بسموم الأفلا أما بشكل حاد Acute aflatoxicosis أو بالشكل المزمن أو تحت المزمن Chronic or Sub-chronic aflatoxicosis وتنتج الحالات الحادة نتيجة التعرض لمستويات عالية من سموم الأفلا خلال فترة زمنية قصيرة في حين تحدث الحالات المزمنة وتحت المزمنة بسبب التعرض لمستويات واطئة من سموم الأفلا لفترات طويلة (5). وينتج عن الشكل الحاد تحطم مباشر للكبد وظهور العلامات المرضية الحادة أو الوفاة نتيجة حدوث تشمع الكبد Liver cirrhosis فيما تسبب حالات التعرض لسموم الأفلا بجرع أقل من المميتة Chronic sub-lethal doses لفترات زمنية طويلة حالات التثبيط المناعي Immunosuppression والتداخلات الغذائية Nutritional interaction في حين يؤدي تراكم مستويات مختلفة من سموم الأفلا إلى حدوث حالات السرطان(18).

إن حدوث التثبيط المناعي في الحيوانات المختلفة بفعل سموم الأفلا يجعلها أكثر عرضة للمسببات الأخرى (19). وقد بينت التجارب التي أجريت على الحيوانات المختبرية أن سم الأفلا B1 قد يكون مسؤولاً عن حدوث حالة قلة تنسج (تعطل نمو) غدة التوثة Thymic aplasia (Pier,1986) ، إضافة إلى انخفاض أعداد وفعالية الخلايا اللمفاوية نوع T T- Lymphocytes.(21)وبصورة عامة تكون تأثيرات سموم الأفلا على الجهاز المناعي أما من خلال تثبيط الاستجابة الخلوية كانخفاض عملية البلعمة وتثبيط عملية تكوين الأرومات الليفية Lymphoblastogenesis وانخفاض استجابات فرط الحساسية الجلدية المتأخر Delayed cutaneos hypersensitivity أومن خلال التأثير على العوامل الخلطية كانخفاض مستوى

الكلوبيولينات المناعية IgA وIgG في البلازما وانخفاض فعالية المتمم وانخفاض في فعالية قتل الجراثيم (Bactericidal activity 5). كما تعمل سموم الأفلا على التقليل من استجابة الأجسام المضادة للقاحات حيث بين (22) أن تغذية الدواجن يومياً على علائق حاوية على سم الأفلا بتركيز (٢٠٠) جزء بالبليون لمدة (٤٠) اسبوعاً أدت إلى انخفاض استجابة الأجسام المضادة للقاحات مرض النيوكاسلNewcastle disease ومرض التهاب القصبات الخمجي Infectious bronchitis ومرض جراب فابريشيا الخمجي Infectious bursal disease. ومن التأثيرات الأخرى لسموم الأفلا هي التداخلات الغذائية حيث إن التعرض المزمن لسموم الأفلا يؤثر على الحالة الغذائية للحيوانات إذ إن الارتباط التساهمي لسم الأفلا مع الـ DNA وانخفاض تصنيع البروتين يحدث بصورة سريعة بعد التعرض ويستمر لمدة (٥) أيام كما تنخفض كفاءة التحويل الغذائي في الحيوانات المتعرضة لسموم الأفلا بالمقارنة مع الحيوانات غير المتعرضة لسموم الأفلا حيث تراوحت النسبة المؤية للانخفاض في كفاءة التحويل الغذائي في الدواجن والخنازير ما بين (٧- ١٠%)، كما لوحظ أن التعرض لسموم الأفلا في أعلاف الحيوانات يسبب حصول انخفاض في معدل النمو وكذلك المقاييس الإنتاجية (23).

٢-٤-٢ سموم الأوكرا Ochratoxins :

أهم أنواعه هو سم الأوكرا Ochratoxin A (OTA) A وتكون الأعفان التابعة للجنسينAspergillus و Pencillium هي المسؤولة عن إنتاج هذا النوع من السموم الفطرية وخاصة *Aspergillus ochraceus*، *A. carbonaris*، *A. melleus* و *pencillium verrucosum*ويمكن أن تتلوث به أنواع عديدة من الأغذية والأعلاف الحيوانية والحبوب والحليب (24).

ولهذا النوع من السموم الفطرية تأثيرات سمي تشمل العديد من أنواع الحيوانات والتي تتمثل بالتأثيرات الكلوية وخاصة التسمم الكلوي Nephrotoxicityوتنخر الكلية النبيبي Tubular necrosis of kidney،الأورام الكلوية Carcinogenesis (kidney tumors) ، التلف الكلوي Liver damage والتشوهات Teratogenesis في الكلية والقناة البولية (5).ويرافق حالات التسمم الكلوي في بعض أنواع الحيوانات وقد ارتفاع مستويات اليوريا والسكر والبروتين داخل

النبيبات الكلوية وعند التعرض للتسمم بالأوكرا تتركز كميات كبيرة من السم داخل الكلية والتي تعمل على تثبيط عمليات تصنيع البروتين والأحماض النووية والفعالية الإنزيمية داخل الكلية ، وتكون المجترات مقاومة لهذا السم بنسبة كبيرة بسبب قابلية الكرش على تحويل سم الأوكرا إلىفينيالانينphenylalanine وα- ochratoxin والذي يكن أقل سمية ولكن تكون العجول الصغيرة أكثر حساسية لسموم الأوكرا ووجد أن لهذا السم دور مهم في تفاقم الإصابة بمرض اعتلال الكلية البلقاني (نسبة لبلدان البلقان) Balkan nephropathy وهو مرض مستوطن في هذه البلدان (25).

٢-٤-٣ سم الزيرالينون(ZEA) Zearalenone :

وهو من السموم الفطرية وكان يسمى سابقاً F-2 toxin وينتج بواسطة بعض أنواع العفن Fusarium وخاصة *Fusarium graminearum*(Gibberellazeae), *F.culmorum, F.cerealis, F.equiseti, F.crookwellense* و*F.semitectum*.(1)

وتتلوث أنواع عديدة من الحبوب بهذا السم الفطري ويعتمد مستوى التلوث على عدة عوامل أهمها نوع المحصول ، درجة الحرارة ، الرطوبة ، فترة التعرض للسم وعترة العفن المسبب (26).

ويكون هذا السم ثابت في الحرارة heat-stable لذا يكون من الصعوبة إزالته أو تقليل تواجده في الحبوب والأعلافوتكون تأثيرات السم متمثلة في التأثير في وظيفة الجهاز التناسلي ويسبب التلوث بسم الزيرالينون بتراكيز واطئة في بعض إناث الحيوانات وخاصة في أبقار الحليب اضطراب في فعالية وإنتاج هرمون الاستروجين مما يسبب زيادة حجم الغدد اللبنية والأعضاء التناسلية والنضج المبكر في حين أن تراكيز السم العالية تسبب تداخلاً في عملية الاباضة وسرعة تطور وحيوية الجنين وارتفاع حالات الإجهاض والتهاب وزيادة الإفرازات المهبلية وانخفاض الأداء التناسليبالإضافة لانخفاضإنتاج الحليب لذلك فمن الضروري عدم زيادة مستوى سمالزيرالينون عن ٢٥٠ جزء بالبليون (مايكرو غرام / كغم علف) (27).

٢-٤-٤ سم الترايكوثسين(T-2 toxin)Trichothecene :

يتم انتاج هذا النوع بواسطة انواع متعدده من الأعفان مثل FusariumCephalosporium, Myrothecium, Stachybotrys وTrichoderma ويعد الـ Fusarium وخاصة النوع *Fusarium tricinctum* الأكثر تواجداً وإنتاجاً للسم في الأغذية والأعلاف ، ومن العلامات المهمة التي تلاحظ في حالات التسمم بالT-2 toxin في الحيوانات فقدان الوزن ،قلة استهلاك العلف والتحويل الغذائي ،التقيؤ ، الإسهال الدموي ، التهاب الجلد ، النزف وانخفاض انتاج البيض في الدواجن، ويلاحظ علامات الالتهابات والنزف الدموي في الأمعاء وترافق حالات التسمم انخفاض الاستجابة المناعية immune response في العجول(5).

٢-٥ الطرق المستخدمة في الكشف عن تواجد السموم الفطرية :

يتم تحديد تواجد السموم الفطرية عادة بالاعتماد على خواص هذه السموم الفيزيائية الضوئية Photophysical properties مثل خاصية امتصاص وانبعاث الطيف الضوئي ومن الممكن تقسيم طرق الكشف عن سموم الأفلا إلى ثلاثة أنواع هي :-

٢-٥-١الطرق السريعة :-Rapid (screening) methods.

وتشمل الطرق المناعية Immunological methods (تعتمد على وجود الأجسام المضادة) والطرق غير المناعية Non - Immunological methods ومن أهم هذه الطرق:-

-طريقة أعمدة الألفة المناعية Immunoaffinity Column Assay .(ICA) حسب ما ذكره(28).

-طريقة الأعمدة الدقيقة Minicolumns methodsحسب ما جاء في(29).

-طريقة قياس الأدمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم Enzyme

-: LinkedImmunosorbent Assay (ELISA)

وهي من الطرق المناعية ، يعتمد مبدأ عمل هذه الطريقة على التنافس ما بين السم الموجود في العينة مع السم المؤشر Labeled toxin (السم المقترن بالإنزيم Toxin-enzyme conjugate) من أجل الارتباط مع الجسم المضاد فكلما كانتكمية السم الفطري المتواجدة في العينة كبيرة تكون فرصة ارتباط السم المؤشر مع الجسم المضاد قليلة ويستدل على هذا الارتباط من خلال اللون الأزرق حيث إن شدة اللونتتناسب طردياً مع كمية السم المؤشر وعكسياً مع كمية السم في العينةأي أن العينة الحاوية على السم الفطري تكون فيها شدة استجابة اللون قليلة(30).

٢-٥-٢الطرق التقليدية :- Traditional (Classical) methods.

وتشمل طرق التقدير الكمي للسموم التي تعتمد على تقنية الاستشراب Chromatography عن طريق فصل وتنقية السموم الفطرية من خليط المركبات في المستخلص ومن أهم هذه الطرق :-

- **تقنية استشراب الطبقة الرقيقة Thin – Layer Chromatography (TLC)**

كما أشار إليه(31).

- **تقنية الإستشراب الغازي:- Gas Chromatography (GC)**كما ذكره تقرير (5).

- **تقنية الإستشراب السائل عالية الأداء :-**

High – Performance Chromatography (HPLC)

يتم في هذه التقنية عملية فصل للمركبات المتواجدة في مستخلص Extract العينة بواسطة الألفة النسبية Relative affinity لهذه المركبات للمواد الموجودة في طور العمود الساكن Stationary column phase وطور المذيب المتحرك Mobile solvent phase وبعد تحرر السم تمر من خلال كاشف يبين المقياس الكمي لهذه السموم المتواجدة في العينة المحقونة في العمود ومقدار الفصل لهذه السموم يعتمد على اختيار الطور الساكن والطور المتحرك والتي

يستخدم فيها بعض أنواع المذيبات كالميثانول والأسيتونترايل وغيرها وتعد هذه الطريقة من الطرق المهمة والعملية وذات حساسية عالية في التقدير الكمي للسموم ولكنها تحتاج لأجهزة ذات كلفة عالية إضافة إلى الحاجة لإجراءعمليةتنظيف المستخلص قبل إجراء عملية الحقن (32).

٢-٥-٣الطرق البحثية :- Research methods

الطرق البحثية عادة لا يتم استخدامها بشكل واسع وإنما ينحصر استخدامها على نطاق ضيق ، ومن هذه الطرق :-

- **الطريقة الإنزيمية Enzymatic method**.كما ذكره (33).

- **طريقة الترحيل الكهربائي الشعيري Capillary Electrophoresis(CE)**.كما في (Maragos and Greer,1997).

- **طريقة المتحسسات الحيويةBiosensors:- وتشمل :-**

١) استخدام ظاهرة الرنين البلازموني السطحي Surface plasmon resonance.
٢) استخدام البصريات الليفية Fiber optics.
٣) استخدام مجسات البصريات الليفيةFiber optics probe.
٤) استخدام السم الفطري المقترن بالبروتين (Aflatoxin - protein conjugate 34).

٢-٦طرق تقليل وإزالة التلوث بالسموم الفطرية :

إن تواجد السموم الفطرية في السلسلة الغذائية هو نتيجة لعوامل عديدة تساعد على نمو وتكاثر الأعفان المنتجة للسموم الفطرية في المحاصيل الزراعية قبل عملية الحصاد وبعدها او توجد العديد من الطرق التي تستخدم لتجنب تكون السموم الفطرية في كل حلقات السلسلة الغذائية ابتداءً من الحقل وحتى وصول الغذاء إلى المستهلك وان ابسط الوسائل للحد من بالسموم الفطرية هو منع تكوينها أساساً في الغذاء (35). وعلى الرغم من استخدام التقنيات الحديثة وخاصة في الدول المتقدمة أثناء عمليات الحصاد والنقل والخزن فانه من الصعب جداً السيطرة على تلوث الأغذية والأعلاف بالسموم(5). لذلك فكان لابد من ابتكار وسائل بديلة لأجل التخلص من السموم الفطرية أو التقليل من تأثيراتها وخواصها السمية بعد عملية الحصاد (36). ومن النقاط الرئيسية الواجب مراعاتها عند استخدام وسائل منع وإزالة السمية هي أن تكون فعالة في التقليل من فعالية السموم وتحطيمها وإزالتها ، كما يجب أن لا تكون للمواد الكيميائية المستخدمة تأثيرات سامة أو مسرطنة أو مطفرة أو من خلال النواتج الأيضية المتكونة في الأغذية والأعلاف ، مع مراعاة الحفاظ على القيمة الغذائية وبقاء هذه الأغذية مستساغة ، كما يجب أن تكون اقتصادية ورخيصة الثمن ، إضافة لقابليتها على تحطيم أبواغ هذه الأعفان من أجل تجنب حدوث التلوث بالسموم الفطرية فيما بعد (5).

٢-٦-١الطرق الفيزيائية Physical methods of detoxification :-

٢-٦-١-١الفصل الفيزيائي Physical separation :-

وتشمل عملية الفصل الآلي Mechanical separation وعملية إزالة السمية المعتمدة على الفرق في الكثافة Density segregation ، حيث يتم الفصل الآلي للمنتجات الملوثة بالسموم وتعتمد هذه الطريقة عندما يكون هناك تلوثاً شديداً في نسبة قليلة من الحبوب حيث إن التخلص منها سوف يؤدي إلى حصول انخفاض واضح في مستوى التلوث بالسموم الفطرية(37). وتعد هذه الطريقة غير ذات أهمية من الناحية العملية بسبب عدم إزالةالحبوب الملوثة بالسموم بشكل تام

إضافة إلى احتمال حدوث الإزالة العكسية للحبوب السليمة ، أما إزالة السمية اعتماداً على الفرق في الكثافة فيتم فيها تحديد وعزل الحبوبوالبذور الزيتية الملوثة عن السليمة بطريقة الطفو على سطح الماء لأن الحبوب الملوثة تكون أقل كثافة من الحبوبغير الملوثة وتؤدي هذه الطريقة إلى حصول انخفاض واضح في مستويات التلوث بالسموم وقد لوحظ أن استخدام المزج بين الطريقتين أعلاه في الحبوب الملوثة تؤدي إلى تقليل (٧٠-٩٠%) من مستوى السموم الفطرية(38).

٢-٦-١-٢التثبيط الحراري Thermal Inactivation :-

تعد السموم الفطرية من المواد المقاومة للتثبيط الحراري لذلك فإنها لا تتحطم بشكل كامل بالمعاملات الحرارية كالمعاملة بالماء المغلي أو جهاز المؤصدة Autoclave أو عمليات الطبخ(39). ولكنها قد تتحطم جزئياً حيث لاحظ (40) حدوث انخفاض بحدود (٢٠%) من مستوى السم في الأغذية المعاملة بدرجة حرارة (١٠٠ م°) لمدة(٣٠) دقيقة.

٢-٦-١- ٣ الإشعاعIrradiation : -

بينت بعض الدراسات دور الإشعاع في التقليل من التلوث بالسموم الفطرية كاستخدام الأشعة فوق البنفسجية (41) ، أو استخدام الأشعة المؤينة مثل أشعة كاما والأشعة السينية (42) والأشعة غير المؤينة كالأشعة تحت الحمراء أو الموجات الدقيقة (43). ولكن استخدام هذه الأشعة قد يعمل على تثبيط المكونات الكيميائية لهذه السموم والتي قد تتحول إلى مركبات مطفرة Mutagen compounds(44). إن تعريض المحاصيل لأشعة الشمس لمدة (١٤) ساعة قد قلل من مستوى السموم ما بين (٧٧-٩٠%) كما أن السموم المتواجدة في الأغذية قد تتحطم عند معاملتها بالموجات الدقيقة Microwaves وان مقدار السم الذي يتحطم يعتمد على مقدار المعاملة وفترة تعرض الأغذية لهذه الموجات (45).

٢-٦-١-٤الاستخلاص بواسطة المذيبات Solvent Extraction :-

بالإمكان استخلاص السموم الفطرية بشكل فعال من الحبوب الملوثة باستخدام خليط من المذيبات يتم اختيارها بدقة بالرغم من تأثير هذه المذيبات الطفيف على القيمة الغذائية للحبوب الملوثة ورغم

كفاءة هذه المذيبات في تقليل مستويات السموم إلا أنها تعتبر مكلفة من الناحية الاقتصادية وغير عملية (46).

٢-٦-٢الطرق الحيويةBiological methods of detoxification: وتشمل

٢-٦-٢-١استخدام الأحياء المجهرية Microorganism :-

لقد لوحظ من خلال بعض الدراسات ان استعمال العتر غير المنتجة للسموم الفطرية مثل بعض أنواع أعفان *A. flavus* و*A. parasiticus* أظهرت تنافساً عالياً ضد العتر المنتجة للسموم قد كان لها تأثير في الحد من مستويات التلوث بالسموم (47). كما ان العديد من الأحياء المجهرية الأخرى كالخمائر Yeast و الأعفان Molds والجراثيم Bacteria لها القابلية على تثبيط السموم الفطرية أو تحويلها إلى أشكال غير فعالة حيث إن بعض أنواع الجراثيم مثل Lactobacilli وBifidobacteria يمكن أن تنافس على المواد الأولية اللازمة لإنتاج سموم الأفلا مثلاً أو تثبيط إنتاج بعض المواد الأخرى اللازمة لإنتاج السموم (48). ومن الطرق الحيوية أيضاً استخدام مخلوط المعززات الحيوية Probiotics الحاوي على جراثيم *Lactobacillus propionibacterium* التي لها دور في تقليل التوافر الحيوي Bioavailability للسموم الفطرية(49) ، فيما أشارت دراسات أخرى إلى أهمية إضافة خميرة الخبز الجافة *Sacchoromycescerevisiae*إلى علائق فروج اللحم بنسبة (٠.٥- ٢%) في تقليل تأثير سموم الأفلا حيث تعمل هذه الخميرة كمادة كلابية Chelating agent ورابطة Binding من أجل تقليل امتصاصها (50).

٢-٦-٢-٢الحماية الكيميائيةChemoprotection :-

تستخدم عادةً بعض المركبات التي لها القابلية على توفير الحماية الكيميائية ضد السموم الفطرية كاستخدام الكلوتاثيونGlutathion الذي يعمل على تغيير القابلية السمية لسم الأفلا (B151) ، أو توفير الحماية للخلايا الكبدية من التأثيرات السمية لسم الأفلا B1 عن طريق زيادة العمليات الأيضية المتعلقة بإزالة سمية سم الأفلا B1 في الخلايا الكبدية(52). إضافة إلى أن بعض العناصر الغذائية كالفيتامينات مثل فيتامين أ ، حامض الفوليك Folic acid ، الكاروتين وغيرها ، إضافة

للدهون المشبعة والسيلينيوم Selenium التي لها قابلية توفير الحماية للإنسان والحيوانات عن طريق تقليل التأثير المسرطن لسم الأفلا B1 على الكبد (5).

٢-٦-٣الطرق الكيميائية Chemical methods of detoxification:-

يوجد العديد من المواد الكيميائية كالحوامض Acids والقواعد Basesوالالديهايدات Aldehydes وثنائي اوكسيد الكبريت Bisulfate والعوامل المؤكسدةOxidizing agents التي لها القابلية على تقليل وإزالة سمية السموم الفطرية من الأغذية والأعلاف بالإضافة إلى استخدام الغازات المتعددة كالمعاملة بالأمونيا Ammoniation أو بغاز الأوزون Ozonation حيث تعتبر المعاملة بالأمونيا من الطرق الأكثر استعمالاً في إزالة السمية من المنتجات الملوثة والتي تشمل المعاملة بالأمونيا الغازية أو السائلة حيث تعمل على تقليل (٩٩%) من مستوى السموم في الأغذية (53) ،ومن مساوئ استخدام الأمونيا إنها تحتاج لدرجات حرارة وضغط عاليين وكذلك تحتاج لأجهزة خاصة وخبرات إضافة إلى كون الأمونيا مادة حارقة ومتطايرة (54) ، كما إن الأمونيا تسبب اسوداد الأعلاف وتغيير ألوانها (55). وفيما يتعلق بغاز الأوزون كعامل مؤكسد فقد أشارت الدراسات التي قام بها (56) إلى قابلية غاز الأوزون على تحطيم وإزالة سمية كل من سموم الأفلا B1 ، B2 ، G1 وG2 الموجودة بشكل نقي في الزجاج *In vitro*. ويعد الأوزون غازاً ثابتاً نسبياً ولكن في الأوساط المائية فان نصف العمر Half-life يستمر لمدة (٢٠) دقيقة (5). وتستخدم هذه الطريقة في معاملة كميات كبيرة من الحنطة غير المطحونة والملوثة بالسموم وتمتاز بانخفاض كلفة إجرائها إضافة إلى قلة تلف العناصر الغذائية المهمة لذا تعد من الطرق العملية (57). بالإضافة إلى ذلك فان هناك بعض المواد الكيميائية التي تستخدم كإضافات غذائية كثنائي كبريتات الصوديوم Sodium bisulfate الذي يتفاعل مع سموم الأفلا B1 وG1 و M1 والـ Aflatoxicol لتكوين نواتج ذائبة في الماء Water-soluble products تكون أقل سمية(53).

٢-٦-٤استخدام المواد الماجزة للسم Sequestering agents :-

يوجد العديد من المواد الكيميائية التي تضاف إلى الأغذية والأعلاف الحيوانية من أجل تجنب التأثيرات السلبية للسموم الفطرية الملوثة لها حيث تمتاز هذه المواد بقابليتها للارتباط مع جزيئة سم الأفلا من خلال أواصر هدروجينية وتكوين مركبات ثابتة داخل القناة الهضمية ومنع امتصاصها (58) ، ومن أهم تلك المواد هي السواد الممتزة Adsorbed materials والتي تقسم إلى نوعين هما الممتزات المحبة للماء Hydrophilic adsorbents مثل سيليكات الألمنيوم المهدرجة Hydrated sodium calcium aluminosilicate والبنتونايت Bentonite والباتومايت Batomite والزيولايت Zeolite والتي تقوم بامتصاص السموم الفطرية والبكتيرية والغازات ، والنوع الآخر هو الممتزات غير المحبة للماء Hydrophobic adsorbents مثل الكاربون المنشط (Activated charcoal59). وتستخدم المواد الممتزة على نطاق واسع لكونها طريقة عملية بسبب انخفاض كلفة إجرائها حيث تضاف منها كميات قليلة إلى الأعلاف والأغذية ولاتتطلب جهداً أو خبرات لإجرائها كما أنها تكون عديمة الطعم والرائحة ولا تؤثر على القيمة الغذائية للمواد العلفية (5 : 53) ، كما أن المركبات المتكونة نتيجة ارتباطها بالسموم في القناة الهضمية تكون ثابتة في ظروف الحموضة المختلفة وليس لها تأثيرات سلبية على الحيوانات (60). ويمكن تقييم كفاءة المواد الممتزة من خلال تأثيرها على زيادة أداء الحيوانات التي تتعرض للسم الفطري كالزيادة الوزنية وكمية العلف المتناول ونسبة الهلاك، أو من خلال قياس متبقيات السموم الفطرية في أنسجة الجسم (الكبد والعضلات) للحيوان المتناول للسم الفطري مع المادة الممتزة (61). ومن عيوب استخدام المواد الممتزة انها قد تلتصق بالمعادن النادرة أو العناصر الغذائية الأخرى مما يسبب حدوث نقص غذائي (62) ، كما انه يجب اختبار كفاءة هذه المواد من حيث الامتصاص أو الالتصاق بالسموم الفطرية سواء في الزجاج *in vitro* أو في الجسم الحي *in vivo* وتحتاج إلى تنشيط بشكل مستمر (63).

الفصل الثالث

الاستنتاجات

Recommendations

الاستنتاجات Conclusions :-

١- تشكل السموم الفطرية مصدر خطورة على صحة الحيوان نتيجة التأثيرات الضارة المباشرة على الأعضاء الحيوية لاسيما الكبد والكليتين بسبب التسمم الحاد بهذه السموم نتيجة التعرض المباشر بمستويات عالية من السم.

٢- للسموم الفطرية تأثير تراكمي في الجسم على المدى البعيد نتيجة التعرض المستمر للسموم لفترات طويلة.

٣- تعد سموم الأفلا ولاسيما سم الأفلا B1 النوع الأخطر من بين السموم الفطرية بسبب كونه الأكثر قابلية على إحداث السرطان وسميته العالية .

٤- للسموم الفطرية آثار اقتصادية كبيرة بسبب حدوث الهلاكات العالية في قطعان الحيوانات نتيجة للتثبيط المناعي.

٥- يتعرض الإنسان لخطر السموم الفطرية نتيجة لتناول منتجات الحيوانات التي تتناول الأعلاف الملوثة بالسموم الفطرية كالحليب واللحوم والبيض.

التوصيات Recommendation :-

١- إجراء الفحوصات الدورية المستمرة للأعلاف للكشف عن تواجد السموم الفطرية في الأعلاف الحيوانية والمواد الداخلة في تركيبها من قبل الجهات المختصة وخاصة على المنافذ الحدودية لمنع دخول الأعلاف أو مكوناتها التي قد تكون ملوثة بالسموم الفطرية نتيجة طول فترة نقلها وخزنها.

٢- إتباع الأساليب الحديثة للتقليل من السموم الفطرية في الأغذية والأعلاف الحيوانية والعمل على تجفيف المحاصيل الزراعية بطرق حديثة وتوفير ظروف الخزن الملائمة للتقليل من فرص تواجد الفطريات وسمومها.