



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة القادسية-كلية العلوم  
قسم البيئة

عزوت وتشخيص انواع جنس *Aspergillus* spp من اجهزة التنفس للمصابين بالأمراض

ضالرثوية المزمنة

بحث مقدم الى جامعة القادسية - كلية العلوم وهو جزء من  
متطلبات نيل درجة البكالوريوس في علوم البيئة من قبل:

الطالب: امير حمزة علي

الطالب: كرار كريم مهدي

م . م . دعاء عبد العباس محمدرضا

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الاسراء الآية (69)



# الاعتراف

الى ملجئي وسندي عند الشداد وسيلتي الى الله (مولاي ابي الفضل العباس ع)

الى مرونق الحياة وسوداد الروح (ابي)

الى ابنسامة صباحي ودف الليالي والايام (امي)

الى من نهر حافزي ومنجزي اخوتي واصدقائي (لجورم دفعتي)

الى اخوتي واخواتي واساتذتي

وكل من وقف معي خلال مسيرتي الدراسية حبا في الله.

اهدي اليكم هذا الجهد المنواضع

لعله يليق ببقايا فضلكم علي.

امير & كرار



## شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة على اشرف الخلق والمرسلين ابي القاسم محمد خاتم النبيين والمرسلين وعلى اله الطيبين الطاهرين وعلى اصحابه المنتجبين وعلى من اهتدى بهديهم الى يوم الدين.

اتقدم بالشكر الجزيل الى الباري عز وجل في كل شيء ثم الى من رباني وتعب في تربيته وكذلك اتقدم بكامل الشكر وتقديري الى عمادة كلية العلوم ورئاسة قسم البيئية

يسعدني ان اتقدم بخالص الشكر والامتنان الاستاذة الفاضلة م.م. دعاء عبد العباس محمد التي تفضلت بالأشراف على هذا البحث فجزاها الله عنا كل خير, فلها مني كل التقدير والاحترام.

## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى عزل انواع الجنس *Aspergillus* spp من حالات الاصابات الرئوية المزمنة في محافظة الديوانية , حيث جمعت عينات القشع من مرضى العيادة الاستشارية للمراض الصدرية والتنفسية. واخضعت العينات الى الفحص المجهرى المباشر والتشخيص الزراعي , واطهرت النتائج ان (100) عزلة عائدة الى الجنس *Aspergillus* spp هناك عدد كبير من العينات على مستوى الانواع التابعة للجنس *Aspergillus* spp سجل *A.fumigates* اعلى نسبة مئوية بتودد ( 29.9%) تلاها الفطر *A.niger* بنسبة ( 28.9%) وعزلت كذلك الانواع *A.fiavus* و *A.terreus* و *A.nidulans* بنسبة (18.7%, 12.14%, 2.8%) على التوالي , كما تم عزل الانواع *A. parasitic us* و *A.ochraceous*

# المقدمة واستعراض المراجع

## المقدمة

تعد الإصابة بالانواع المختلفة من الفطر *Aspergillus* spp من اكثر انواع الاصابات الفطرية شيوعا و الاكثر تكرارا من بين الاخماج المختلطة (mixed infection) (Prescott et al.,2005) . كما تعتبر الانواع التابعة لهذا الجنس ممرضة انتهازية (Opportunistic pathogenic) تنتشر بكثرة في التربة والهواء , وتتمكن من النمو في اي وسط حي , وتحدث الإصابة بها نتيجة للاستنشاق الابواغ Airbone اذ تتمكن من الوصول الى الاسناخ الرئوية باضعف تيار هوائي نتيجة لحجمها الصغير , والتي تؤدي الى حدوث داء الرشاشيات الرئوية (Pulmonary Aspergillosis) (اسماعيل, 2008) , توجد عوامل تزيد من شدة الإصابة للمضيف , والتي تجعل الفطر قادر على تجاوز الخطوط الدفاعية الاساسية للمضيف , كما تسهم في تخريب النسيج الذي تسوطنه مثل العمر , الجنس , الضعف , الوهن المناعي , السمنة , الامراض الخبيثة , مرض السكري وتناول ادوية المثبطة للمناعة كالمركبات الستيرويدية (steroid) ومرافقة بعض الامراض الرئوية المزمنة التي تعتبر مهيب لحدوث الإصابة مثل السل الرئوي وخرجات الرئة والربو والتهاب القصبات .

المزمن او الحاد (الجناعي,2012).

تتخذ الفطريات ومنها جنس *Aspergillus* spp اساليب وراثية وفسلجية متعددة لتجنب دفاعات المضيف مسببة بذلك المرض والاصابة بواسطة افرازها الانزيمات الخارج خلوية والذي واحد من اهم عوامل الضراوة الكامنة في هذا الفطر (Alpsoy , 2010) .

وعموما يعني مصطلح Aspergillosis الالتهابات التي تسببها فطريات *A.fumigatus* في الجهاز الرئوي القصي ويمكن للأنواع الاخرى من الجنس مثل (*A.flavus,A.niger,A.terreus*) ان تصيب ا لثة لتسبب طيف واسع من الامراض الرئوية التي يتراوح مداها من تفاعلات فرط الحساسية الى الإصابة الجهازية المباشرة وغالبا ما تكون الاعراض والعلامات السريرية غير واضحة ولا تدل على نوع المسبب , وبشكل عام فأنشدة الإصابة تعتمد على مناعة المضيف وضراوة الفطر . (Ines et al.,2011).

نظرا لزيادة اصابات الحساسية والربو في السنوات الاخيرة وانتشار الحالات المشجعة للإصابة بفطر *Aspergillus* استهدفت دراساتنا الحالية عزل وتشخيص المورفولوجي والمجهري للأنواع التابعة لجنس *Aspergillus*.

## الجنس *Aspergillus* spp

يعد الفطر *Aspergillus* من الاجناس واسعة الانتشار والذي يتضمن انواعا عديدة تسبب اصابات للانسان والحيوان وفساد الاغذية ونتاج السموم كنواتج ثانوية ومن جهة اخرى فانه قد يكون مفيد من خلال قدرته على تخمير الاغذية كما له العديد من التطبيقات الحياتية المتنوعة , ان اول من اكتشف جنس *Aspergillus* الراهب الايطالي وعالم الاحياء Micheli عام 1927. (Samoson and Vagra,2008).

ان انواع الفطر *Aspergillus* لها القدرة على النمو والتنافس على الغذاء مع بقية الفطريات ومنهامسببات امراض النبات الامر الذي اتاح الفرصة لاستعمال الفطر في المقاومة الاحيائية (Mulcherajee and Sen ,1992). لبعض الانواع الفطرية على انتاج السموم الفطرية ومن اهمها سموم الافلاتوكسين التي تنتج من بعض الانواع التابعة لجنس (*Aspergillus* (Anaimi, 2001) في حين يمتاز الفطر *A.ochraceus* بقدرته العالية على انتاج سموم الاوكراتوكسين (Ochraetoxin A) اكثر من بقية الانواع الاخرى (Conuncil for Agri.Scie.,2003). كما يلوث هذا السم الاغذية ويعمل على انتحار الخلايا النباتية (Wang et.al.,2013) ويسبب خسائر كبيرة في القيمة الغذائية وتأثيرات بيئية على سلسلة الغذاء (Mateo et al .,2011).

ان اكثر من 50% من سموم الاوكراسجلت في الحبوب وبنسبة اكثر من 1ملغم/كغم اكتشف الاوكراتوكسين في جنوب افريقيا عام 1965 من قبل Scott ووجد على سطوح لحوم الخنازير 1968 وترجع تسميته الى اول فطر عزل منه *A.ochraceus* (Krishnamarthy , 2005). الاوكراتوكسين لها تأثيرات مختلفة شوهدت على العديد من الكائنات الحية فهو بالدرجة الاولى سم كلوي ويؤثر على الكبد ويشابه في تأثيره الافلاتوكسينات B1 ويسبب تشوه الاجنة وهو عامل مسرطن ويثبط الجهاز المناعي (Moura et al ., 2004).

اشار (Huwing et al .,2001) الى ان السم الذي يفرزه الفطر *A.ochraceus* يسبب العديد من الامراض منها *Nephropathy Balkan* وهو مرض يسبب تلف النبيبات الدقيقة في الكلية في دول البلقان وقد يكون مميت للانسان حيث يسبب عجز الكليتين , كما يعمل على حدوث امراض خبيثة .

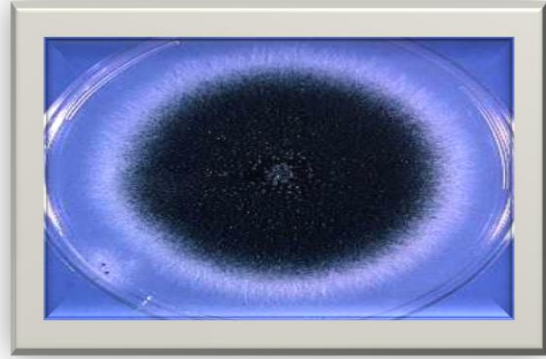
## ***Aspergillusfumigatus***

وهو فطر ينتمي لجنس الرشاشيات ويعتبر من أكثر أنواع الرشاشيات تسبباً في حدوث أمراض عند الأشخاص ذوي المناعة المنخفضة, فهي تتواجد في الطبيعة بشكل واسع وخصوصاً في التربة والمواد العضوية المتفسخة كأكوام السماد حيث تلعب دوراً مهماً في إعادة استخدام الكربون و الأزوت وتنتج مستعمرات الرشاشية الدخناء





في مستعمراتها آلاف الأبواغ ذات اللون الرمادي المخضر والمحمولة على حوامل بوجية وسرعان ما تنتشر بالهواء، تنتشر أبواغ الرشاشيات في البيئة ويقدر عدد الأبواغ التي يتم استنشاقها بعدة مئات من الأبواغ في اليوم الواحد والتي يتم القضاء عليها من قبل دفاعات الجسم المختلفة في الأجسام السليمة. بينما في المرضى الذين يعانون من خلل في أجهزتهم المناعية مثل الأشخاص الذين قاموا بعملية زرع أعضاء أو يعانون من الأيدز أو أبيضاض الدم يتحول هذا الفطر إلى ممرض ويسبب مرض يدعى داء الرشاشيات (Thom C, Church (MB;.1918



صورة توضح الفطر *A.fumigatus*

### ***Aspergillusniger***

فطر من أحد أنواع الرشاشيات و أكثرها انتشاراً. يسبب أمراضاً للفواكه و الخضراوات يدعى بالعفن الأسود. ينتشر بشكل واسع في التربة بالإضافة لتواجده داخل المنازل، حيث من الممكن أن يتم الخلط بين مستعمراته السوداء و المستعمرات الناجمة عن ستاكيوترس و التي تدعى أيضاً الفطر الأسود. و ينتشر هذا المرض بشكل خاص بين عمال البساتين حيث أنهم معرضون لاستنشاق غبار الخث و الذي يكون غني بأبواغ الرشاشيات. كما تعتبر الرشاشية السوداء واحد من أهم أسباب الامراض الفطرية في الأذن و الذي يترافق بالإضافة للألم مع أضرار في القناة السمعية و غشاء الحلزون (Samoson and Vagra,2008).



صورة توضح الفطر *A.niger*

: *A.flavus*

هو المنتج الرئيسي للأفلاتوكسين المسرطنة في المحاصيل في جميع أنحاء العالم و هو أيضا ممرض للإنسان والحيوان الانتهازية، تتميز مستعمراته باللون الاخضر الزيتوني المائل للاصفرار (Thom C, Church (MB;.1918



صورة توضح الفطر *A. flavus*

## *Aspergillusterreus*:

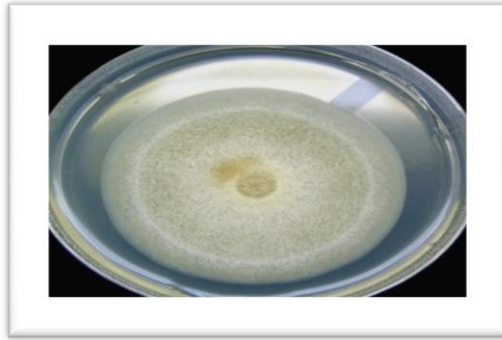
هو احد انواع الرشاشيات ، وتنتج الجراثيم التي تنتشر بكفاءة في الهواء على مدى مجموعة من المسافات.. عادة ما يتم تفرغ الجراثيم في الفطريات في الهواء الساكن، ولكن في *Aspergillusterreus* وجدت في جميع أنحاء العالم في التربة الحارة و الصالحة للزراعة تتميز مستعمراته باللون الرمادي وعندما تتقدم المستعمرة بالعمري يتحول اللون الى وردي او بنفسي فاتح (Thom C, Church MB;.1918)



صورة توضح الفطر *A.terreus*

## *Aspergillus nidulans*

فطر خيطي من أنواع الرشاشيات. و قد اتخذ هذا الفطر على أنه نموذج لدراسة بيولوجيا الخلايا حقيقية النواة على مدى 50 سنة. حيث تم استخدامه للدراسات الجينية وذلك لانه يتميز هذا الفطر بقدرته على التزاوج الذاتي و تشكيل الأجسام المثمرة بدون وجود النمط الجنسي الأخر للفطر تتميز مستعمراته باللون الابيض المائل للرمادي (Thom C, Church MB;.1918).



صورة توضح الفطر *A.nidulus*

# المواد وطرق العمل

## المواد وطرق العمل

عزل الفطريات المختبرة من حالات التهاب المجاري التنفسية السفلى (LRTIs). حيث جمعت عينات القشع من مرضى العيادة الاستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية والذين يعانون من سعال مصحوب بقشع مستمر لمدة طويلة وغير مستجيب للعلاج , نبدأ اولاً بتعقيم الفم والغرغرة بمحلول ملحي في الصباح الباكر واخذ العينة من كل مريض ووضع في قناني زجاجية معقمة , واجري التحري الاولي عن وجود الفطريات باتباع الفحص المجهرى المباشر وباستخدام كمية من هيدروكسيد البوتاسيوم (10% KOH). في نفس الوقت زرعت العينات باستخدام العيدان الخشبية المعقمة ( Swabs ) بأمرارها على سطح اطباق بلاستيكية او زجاجية معقمة حاوية على الوسط الغذائي ( Sabouraud Dextrose Agar (SDA) والمحضر حسب تعليمات الشركة المجهزة Biomerieux والمثبتة على العبوة , وعقمت بالمؤصدة البخارية بدرجة ( 121 م) لمدة (15) دقيقة , وكذلك تتم استخدام الطريقة المباشرة للعزل ( Direct plate method ) ( Warcup ,1950) . وحضنت الاطباق عند درجة حرارة  $28 \pm 2$  م° ولمدة سبعة ايام مع المتابعة اليومية.

## تشخيص العزلات على مستوى النوع:

اتبع  
يُح التصنيف المذكورة من قبل (Quinn et al., 2002) و (Pitt And Hocking, 1997) في تشخيص عزلات جنس *Aspergillus* وذلك بدراسة الخصائص الشكلية المورفولوجية والمجهريّة من حيث شكل المستعمرة ولونها وقوامها ونوع الغزل الفطري والروؤس الكونيدية وشكل ولون الكونيدات وابعادها ومن ثم اخذت عينة من كل مستعمرة ولقحت باستخدام تقنية تلقیح الاوساط الزرعية على وسطين زرعيين اساسيين للتشخيص Czapek Yeast Extract Agar (CZA) & Malt Exteract Agar (MEA) وحضنت هذه الاطباق عند درجة حرارة 25م° و 37م°.

# النسأفج و المنأقفة



## النتائج والمناقشة

اولا: اظهرت نتائج الفحص المجهرى المباشر ( 10% KOH نتيجة موجبة للتحري الاولي عن جنس *Aspergillus* في (36) عينة قشع جاءت النتائج مطابقة مع ما توصلت اليه ( Al-Ameri,2005 ) في كون الفحص المجهرى المباشر لايمكن الاعتماد عليه في اختبار كشف عن وجود او عدم وجود الفطريات (Niazi,2000) وان ظهور بعض نتائج السالبة او الموجبة كاذبة بالفحص المجهرى المباشر يعود الى عدة اسباب ظهور فطريات اخرى مثل *Scopulariopsis* Sp. و *Pseudallescheriasp.* التي تربك الفحص الفحص او تعطي تشخيصا خاطئا , او قد تكون ناتجة عن البكتيريا اللاهوائية وليست اصابة فطرية , او جود المايكوبلازم و غيرها من المسببات , اضافة الى احتمالية حدوث الخطا التجريبي, لذا فان عزل الفطر على الوسط الزرعى يوفر وسيلة مفيدة جدا من اجل التشخيص (Batra et al.,2006).

ثانيا : نسبه الاصابه بفطر *Aspergillus* وانواعه المعزوله

اعتمادا على نتائج الفحوصات المظهرية , المزروع منها و المجهرية في تشخيص العزلات اثبتت عدد من العزلات بانها تعود الى جنس *Aspergillus* في عينات القشع , وذلك بعد تنميتها على وسط (CZA) وبالاعتماد على المفاتيح التصنيفيةالمعتمده في عدد من المراجع ومنها (Quinn et al.,(2002) و (Pitt and 1997) Hocking, وبذلك يكون جنس . *Aspergillus* spp قد شكل نسبه ظهور ( 26.35 % ) من المجموع وهذا بدورة يعتبر مؤشر عامل خطورة صحيح قد يكون له دور في تفاقم الحالات المرضية الرئيسية وظهور اعراض التحسس لدى مراجعي العيادة الاستشارية للأمراض التنفسية والصدريه . حيث كان أكثر ثاني الأجناس تكرارا بعد الخمائر مما يشير كذلك إلى دورها في إحداث التهاب الجهاز التنفسي الفطري والذي يكون محددًا أو أدنى مما للفطريات الخيطية خاصة وان خميرة *Candida* من المستوطنات الطبيعية لتجويف المجاري التنفسية مما يفسر ظهور الخمائر بأعداد عالية (أشبيكي,2006) .

ان نسبه العزل الجنسي *Aspergillus* المسجلة بالدراسة الحالية سبق وان سجلت في دراسة ( Al amen, 2005 ) والتي أجرت دراسة عن مسببات الالتهابات الرئوية في حافظه الديوانية .كذلك تتفق النتائج مع دراسة (الغالبى , 2006والجناحي , 2012).وقد بينت العديد من الدراسات حول العالم إن الفطريات الرمية هي التي تسود في الجهاز التنفسي ومنها ما ذكره(عبود, 2006). ويعود ذلك إلى طبيعة نمو هذه الأحياء حيث تعتبر القناة التنفسية مكان مناسب لنموها فهو مكان رطب ودرجه حرارة مناسبة مع وجود المغذيات فضلا عن العوامل المؤهله كالانسداد الرئوي المزمن والسكري والاستخدام المفرط للمضادات الحيائية(LconarRociocl .(2011). أما على مستوى الأنواع التابعة لجنس *Aspergillus* فقد سجل الفطر *A.fumigatus* اعلى

نسبه مئوية كانت للإصابة وكانت (29.9%) وتلاه فطر *A.ngier* بنسبه (28.9%) في حين سجل *Arerreus flavus* نسبة (18.69%) و(12.14%) على التوالي. وان سيادة هذه الأنواع الاربعه جاءت مطابقة لما وجدته (Al-Ameeri) 2005 , كما تم في هذه الدراسة عزل الفطريات *A.ochraceus* . *A.parasiticus* للمرة الأولى على المستوى المحلي في عينات القشع وبذات النسبة التي سجلها عبود (2006) في حافظه ذي قار . وكذلك سجلت اقل نسبه عزل للنوعين (*A.penicillioides* . *A.ustus* (0.93%)

# الاستنتاجات والتوصيات

## الاستنتاجات والتوصيات

### الاستنتاجات

من خلال دراستنا وجدنا ان اغلب حالات الاصابات الرئوية والربو تعود للفطريات وذلك لانتشار ابواع الفطريات وخاصة الرشاشيات بكثرة لقدرتها على تحمل الظروف الغير مناسبة

### التوصيات

من الضروري أحداث الإصابة التجريبية بهذه الفطريات مستقبلا للتأكد من أمراضه وعوامل الضراوة التي تمتلكها بالإضافة لمعاملتها بالمستخلصات النباتية والمضادات ومعرفة ايهما اكثر قدرة على تثبيط وقتل هذه الفطريات.

المعاصر

- Al-Ameri, N.O.**(2005). A study of taxonomy Epidemiology of pulmonarymycoticinfectionin Al-Qadisyia Province .Ph.D.Thesis.Collage of Education-Al-QadisyiaUniversit
- Alpsoy, L.**(2010). Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities . Afr . J. Biotechl.,9(17);2474-2481p.
- Batra, V.,B. Asmar and J. Y. Ang.** (2006). Aspergillois. eMedicine D:/Medical Mycology/eMedicine-Aspergillois Article by VandanaBatra MD.htm.
- Ines, F.M.; Almedia,H.M.; Lourdesrdes, M.;Sara,M.O.;Santos,M.S.; Freitas, J.M.;Gasper, N.C.& Fernando,** (2011). Mycobiot and aflatoxin B1 In feed for farmed sea Bass
- Leonar, R.E. C.&Rocio, o.** (2011). Malaurtiration and Gastrointestestional and Respiratory Infection in children : Apublic healthy problem. 1174-1205p.
- Niazi ,A.D.**(2000). Statistical Analysis In Medical Research . Republic of Iraq . AL.- Nedrien university.
- O'Gorman,CM.;**(2008).Discovery of a sexual cycle in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillusfumigatus*.
- Pitt, J.I. and A.D.,Hocking** (1997) . Fungi and food Spoilage. Blackie Academic professional, 366-368p.
- Prescott, C.M.;Harley , J.P.;Klein ,D.A.**(2005). Micobiology . 6<sup>th</sup>edn ., Mcgraw-Hill Companies., U.S.A. 924p
- Quinn, P.J.; Carter . M.G.; markey , B.&Carter , G.R.**(2002). Clinical Veterinary Microbiology, M. Wlof, London.
- Samson, R.A.**(1994). Current systematics of the genus *Aspergillus*.In the genus *Aspergillus* . From Taxonomy and to industrial Application . Plenum press, London ; 261-279.
- Thom C, Church MB.** (1918). "*Aspergillusfumigatus*, *A. nidulans*, *A. terreus* n. sp. and their allies". American Journal of Botany.
- Warcup, J.H.**(1950). The soid plate method for Isolation of fungi from soid. Nature Iondo. 66:118-120p.

أسماعيل , محمدطاهر , عبيرالكفري ( 2008 ). كتابالطفيلياتوالفطورالطبية , منشوراتجامعةدمشق – كليةالطبالبشري .(458 صفحة).

الجناحي , فرقدعبدالإلهالجناحي ( 2012 ) .  
تأثيرمستخلصاتنباتالبندر Cordiamyxa فينموالفطرياتالمعزولةمنمرضالأخماجالرئويةفيمدينةالديوانية .  
رسالةماجستير , كليةالتربية –جامعةالقادسية .

الشبلي , ماجد كاظم عبود (2006) . تأثيرات العزلات السرييرية لخميرة المبيضات Candida albicans دراسة بايولوجية ونسجية مرضية في محافظة الديوانية . أطروحة دكتوراه - جامعة القادسية .

الغالبى , حيدر حبيب حطيط ( 2006) . التأثيرات الخلطية لبعض المضادات الفطرية ومستخلصات نبات الثوم والأستجاه بعض الفطريات الرئوية الأنتهازية . رسالة ماجستير , كلية التربية - جامعة القادسية .