

عزل وتشخيص فطريات هواء قسم علوم الحياة

هبة هادي طه
شيماء فيصل يونس
أ.د. نديم احمد رمضان
ضحى محمد سالم

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة في الهواء الداخلي للبنية الجديدة والمؤلفة من خمسة طوابق والقديمة المؤلفة من طابقين لقسم علوم الحياة. وكان مجموع المستعمرات للبنية الجديدة هو 7: 11 و 13 و 10: 9 و 14: 10 و 15: 10 على التوالي، وتم تشخيص 13 جنسا ، فضلا عن الخمائر. وقد وصلت نسبة تكرار الخمائر إلى 27.77% في الطابق الأول وانخفضت إلى 4.0% في الطابق الخامس. تم عزل وتشخيص 12 جنسا من الفطريات منها 8 أثناء الدوام الرسمي للطلبة من بناية القسم القديمة و 10 اجناس في العطلة الربيعية فضلا عن الخمائر في كلا الفترتين. كان هناك 4 أجناس تكررت خلال الفترتين (Penicillium و Aspergillus و Cladosporium و Rhizactonia) وقد كانت فطريات Penicillium و Cladosporium أكثرها تكرار ووصلت نسبة التكرار إلى 39.39% و 21.12% على التوالي خلال الدوام و 20.51% و 17.95% على التوالي أثناء العطلة الربيعية ولم تظهر الفطريات التالية خلال الدوام وهي Iternaria و Stemphyllium و Trichoderma و Helminthosporium و Trichophyton بينما لم تظهر فطريات Rhizopus و Aurobasidium خلال العطلة الربيعية.

كلمات مفتاحية: الفطريات المحمولة بالهواء، فطريات المباني، الحساسية، الخمائر .

Isolation and Identification of fungi in Biology Department

Abstract The study included isolation and diagnosis of fungi found in the internal air of the new building, consisting of five floors and the old building consisting of two floors for biology department. The total colonies for the new building were 7: 11, 13:10, 11: 9, 14:10 and 15:10, respectively, and 13 species were identified, as well as yeasts and 6 type of the genera. The frequency of yeast was 27.77% on the first floor and decreased to 4.0% on the fifth floor. Was isolated and diagnosed 12 genera of fungi, including 8 during the official work for students of the old department building and 10 genera in the spring holiday as well as yeast in both periods. There were 4 species repeated during the two periods (Penicillium, Aspergillus, Cladosporium and Rhizactonia). Penicillium and Cladosporium were the most frequent. The frequency rate was 39.39% and 21.12% respectively during working and (20.51% , 17.95%) respectively during the spring holiday. The fungi did not appear during the official work is Alternaria, Stemphyllium, Trichoderma, Helminthosporium and Trichophyton, while Rhizopus and Aurobasidium did not appear during the spring holiday.

Keyword :Airborn fungi ,indoor mold ,allergy, Yeasts.

المقدمة

الفطريات Fungi عبارة عن كائنات حقيقية النواة Eukaryotic تختلف في تغذيتها وسلوكها وتركيبها عن كافة الكائنات الحية الأخرى تمتاز بانها متباينة التغذية Heterotrophic أي أنها لا تستطيع ان تصنع غذائها بنفسها لعدم احتواء خلاياها على مادة الكلوروفيل وتحصل على غذائها بالترمم على المواد العضوية أوالتطفل على الكائنات الأخرى وتمتلك الفطريات مقومات خاصة تمكنها من القيام بمجموعة واسعة جدا من النشاطات والفعاليات التي تتداخل في كافة مفاصل حياة الإنسان [1]، اذ تمتاز الفطريات بقدرتها على إنتاج السموم بمختلف أنواعها وكذلك بكفاءة جهازها الإنزيمي الأمر الذي يجعلها مصدر خطورة على الإنسان بشكل مباشر من خلال التعاطي مع الفطريات نفسها كما هو الحال في بعض انواع الحساسية الناتجة من استنشاق الابواغ او غير مباشر من استنشاق أو تناول مواد ملوثة بالسموم الفطرية [2]. يعد الهواء من مكونات البيئة المهمة وهو عرضة للتلوث بكثير من المواد كالغبار والأدخنة والفطريات والبكتريا وحبوب اللقاح وغيرها وان أكثر من 225 نوعا من الفطريات عزلت من هواء الأبنية [3,4] ، وتنتشر فطريات الهواء بواسطة تيارات الهواء بشكل ابواغ وقطع خيوط فطرية تتمكن الكائنات الدقيقة ومنها الفطريات من دخول المباني عبر دخول الهواء الخارجي واثاء التدفئة والتهوية ونظام تكييف الهواء ومن خلال الابواغ والنواتذ وكذلك تدخل مع مواد البناء والمحتويات كملوثات لها اذا ارتفعت نسبة الرطوبة لفترة كافية [5]، أصبحت فطريات الهواء داخل الأبنية مهمة بشكل متزايد إذ أن لها تأثيرات ضارة على الصحة اي ان التعرض للفطريات يسبب التهيجات والحساسية والتأثيرات السامة كما ان الفطريات السامة تسبب كثيراً من المشاكل الصحية للإنسان. والمعلومات التي يتم الحصول عليها من عينات فطريات الهواء يمكنها ان تساعد في التعقيم وتحديد طرائق العلاج وتقدير المخاطر الصحية كما أنها تفيد في تحفيز متابعة قياس نوعية الهواء الداخلي لتجنب وقوع الإضرار [6,7]، ان ظاهرة الحساسية التي تسببها الفطريات تم إثباتها منذ عام 1873 وذلك عندما افترض العالم بالكلي ان استنشاق ابواغ الفطريات الخيطية يحتمل ان تسبب حساسية الجهاز التنفسي [8,9]، اذ توجد ثلاث آليات للمرض تسببها الفطريات وهي العدوى والحساسية والتسمم الغذائي، إذ أن لكل حالة يرتبط فيها المرض بنوع خاص من الفطريات، في الآونة الخيرة نشأت اختلافات عديدة على نطاق واسع حول تأكيدات غير مثبتة علميا مفادها هو ان التعرض لفطريات الأماكن المغلقة يسبب أمراض محددة ومعروفة، كما ان هناك العديد من الأبحاث المنشورة منذ عام 1924 والتي أوضحت ان وجود الفطريات احد أسباب الربو الناتج عن الحساسية وذلك بعد ثبوت وجود الأجسام المضادة التحسسية للفطريات (IgE) [10,11] كما ان جميع أجزاء الفطر المسببة للحساسية (ابواغ الفطريات،الميسليوم وغيرها من أجزاء الفطر الأخرى) لها القدرة على حث الأجسام المضادة إضافة إلى أن بعض سلالات الفطريات تحتوي على أربعين أو أكثر من العوامل المسببة للحساسية للإنسان. ان معظم الدراسات العلمية المهتمة بأمراض الفطريات تشير إلى ان استنشاق ابواغ الفطريات او أجزاء من خيوط الفطر يمكن ان تسبب إصابة ويتوقف ذلك على نوع الفطر وفترة التعرض له كما ان الاستجابات للحساسية (الربو، الحساسية الأنفية، الالتهاب الرئوي مفرط الحساسية) تعد من أهم المشاكل الطبيعية والأكثر شيوعا والمتعلقة باستنشاق الفطريات [12] لذلك ارتأينا في هذا البحث التحري عن الفطريات في الهواء الداخلي للبناية الحديثة والقديمة لقسم علوم الحياة في جامعة الموصل والتعرف عليها وعلى مدة خطورتها ومراضيتها.

الهدف من الدراسة : عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة في هواء قسم علوم الحياة في غياب الطلبة واثناء تواجدهم.

المواد وطرائق العمل

- (1) **جمع العينات:** تم إجراء البحث في جامعة الموصل داخل أبنية قسم علوم الحياة في الأسبوع الأخير من شهر كانون الثاني أثناء العطلة الربيعية للطلبة والأسبوع الثاني من شهر شباط 2018 أثناء دوام الطلبة.
- (2) **تحضير وسط أكار البطاطا (PDA) Potato Dextrose agar:** أخذت درنات البطاطا بمقدار (200غم) وغسلت جيدا ثم قطعت إلى قطع صغيرة وطبخت لمدة نصف ساعة في دورق مع نصف لتر من الماء المقطر. رشحت البطاطا المسلوقة خلال قطعة قماش شاش. نأخذ الراشح ونضيف له سكر Dextrose بمقدار (20غم) بعد ذلك تم إضافة الاكار تدريجيا لحين الذوبان كليا وأصبح المحلول رائق. يكمل الحجم إلى اللتر بإضافة النصف المتبقي من الماء المقطر ويوضع الوسط في جهاز التعقيم (Autoclave) في درجة حرارة (121) °م لمدة (15 دقيقة). بعد التبريد وقبل التصلب يضاف المضاد الحيوي Streptomycin بتركيز 50 جزء بالمليون. ثم يوزع الوسط على إطباق بتري ومنتظر لغاية تصلب الوسط بعدها تحفظ الإطباق في الثلاجة لحين الاستعمال.
- (3) **عزل الفطريات:** تم جمع ابواغ الفطريات بطريقة الترسيب بالأطباق المفتوحة (Open etri Dishes) حضرت الأطباق الحاوية على الوسط الزرعي (البطاطا والدكستروز والاکار PDA). ثم تم كشف غطاء الطبق وتعريض الوسط للهواء لمدة (10 دقائق) بعدها تم إعادة الغطاء ، وزعت الإطباق على الطوابق الخمسة في البناية الجديدة لقسم علوم الحياة والطابقين في البناية القديمة وبعد ذلك تم إعادة الأغشية، حضنت الإطباق في الحاضنة في درجة (25-28) °م لمدة أسبوع.
- شخصت الفطريات النامية على الأطباق وذلك بالاعتماد على المظهر الخارجي للمستعمرة (اللون وشكل المستعمرة) وأيضا بالاعتماد على الصفات المجهرية (شكل وحجم وتركيب الحوامل والابواغ) وذلك باستعمال المفاتيح التصنيفية [15,14,13].
- (4) **تشخيص انواع فطر Aspergillus:** نقيت عزلات الفطر Aspergillus و نظراً للاختلافات الطيفية في الجزء الخضري بين انواع الجنس فاعتمد التشخيص على النمو في اوساط زرعية مختلفة وفي درجات حرارية مختلفة، إذ استعملت ثلاثة اوساط زرعية اساسية للتشخيص وهي وسط زايب ومستخلص الخميرة (CYA) Czapek Yeast Extract وسط مستخلص الشعير المنقوع (MEA) Malt Extract Agar) وسط نترات الكليسرول (G25N) Extract وسط مستخلص الابرته التلقيح المعقمة والمبردة رفع قرص من الفطر قطره 7 ملم ووضع في طبق 28 °م لمدة 7 ايام . استعملت ثاقبة الفلين للحصول على اقراص من المستعمرة بعد تعقيمها بغمرها بالكحول 70% والتلبيب ثم التبريد وباستعمال ابرة التلقيح المعقمة والمبردة رفع قرص من الفطر قطره 7 ملم ووضع في طبق زجاجي حاوٍ على احد الاوساط الزرعية الثلاثة السابقة المذكور بواقع 3 مكررات/فطر/وسط زرعي . والتحصين في درجات حرارية (5 و 25 و 37 °م) لمدة سبعة ايام . شخصت الانواع من خلال شكل النمو ولونه وقطر المستعمرة الفطرية وبالاعتماد على المفاتيح التصنيفية [15].

النتائج والمناقشة

الجدول (1) يبين ان عدد مستعمرات الفطريات (التي ظهرت في الأطباق من هواء البناية الجديدة لقسم علوم الحياة والمؤلفة من خمسة طوابق خلال العطلة الربيعية واثاء الدوام بعد ذلك) بدأ بالتزايد من الأسفل إلى الأعلى (في عطلة نصف السنة واثاء الدوام بعد العطلة ب 15 يوم) وكان مجموع المستعمرات هو 11:7 و 10:13 و 9:11

و14:10 و 15:10 على التوالي، وإنه تم تشخيص 13 جنسا (الشكل 1،) ، فضلا عن الخمائر و6 أنواع تعود إلى الأجناس. وقد وصلت نسبة تكرار الخمائر إلى 27.77% في الطابق الأول وانخفضت إلى 4.0% في الطابق الخامس. بشكل عام كانت أكثر الفطريات تكراراً هي فطر *Penicillium* بنسبة 17% يليه فطر *Cladosporium* بنسبة 11%.

جدول (1). الفطريات المعزولة من هواء البناية الجديدة لقسم علوم الحياة خلال العطلة الربيعية ودوام الطلبة

العزلات الكلية		الطابق الخامس			الطابق الرابع			الطابق الثالث			الطابق الثاني			الطابق الاول			الفطريات	
Forming UnitColony / طبق عدد المستعمرات																		
% للتكرار	الدوام	العطلة	% للتكرار	الدوام	العطلة	% للتكرار	الدوام	العطلة	% للتكرار	الدوام	العطلة	% للتكرار	الدوام	العطلة	% للتكرار	الدوام		العطلة
9.0	4	5	4.0	1	0	12.5	2	1	10.0	0	2	13.04	1	2	-	0	0	Altarnaria alternata
14.0	10	4	16.0	3	1	35.71	5	1	-	0	0	8.70	0	2	11.11	2	0	Aspergillus spp.
5.0	4	1	12.0	2	1	4.16	1	0	-	0	0	-	0	0	5.55	1	0	Aureobasidium
11.0	11	0	12.0	3	0	8.33	0	2	20.0	2	2	26.08	4	2	22.22	3	1	Cladosporium spp.
1.0	1	0	-	0	0	4.16	1	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	Cladosporium musea
4.0	1	3	12.0	0	3	-	0	0	-	0	0	-	0	0	5.55	1	0	Geotricum spp.
1.0	0	1	4.0	0	1	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	Microphomina spp.
17.0	10	7	32.0	6	2	12.5	1	2	20.0	2	2	8.70	1	1	-	0	0	Penicillium spp.
6.0	1	5	-	0	0	-	0	0	-	0	0	13.04	1	2	16.66	0	3	Rhizopus stolonifer
6.0	4	2	-	0	0	8.33	1	1	25.0	4	1	-	0	0	5.55	1	0	Rhizoctonia solani
2.0	0	2	4.0	0	1	-	0	0	-	0	0	-	0	0	5.55	0	1	Stemphylium spp.
2.0	1	1	-	0	0	4.16	0	1	5.0	1	0	-	0	0	-	0	0	Trichoderma spp.
3.0	3	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	13.04	3	0	-	0	0	Trichophyton spp.
1.0	1	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	4.35	1	0	-	0	0	Ulocladium spp.
18.0	9	9	4.0	0	1	20.8	3	2	20.0	2	2	8.70	2	1	27.77	3	2	Yeast
-	57	43	-	15	10	-	14	10	-	11	9	-	13	10	-	11	7	المجموع

الجدول (2) تم عزل وتشخيص 12 جنسا من الفطريات منها 8 أثناء الدوام الرسمي للطلبة في القسم و10 أنواع في العطلة الربيعية فضلا عن الخمائر في كلا الفترتين. وكان هناك 4 أجناس تكررت خلال الفترتين (Penicillium و Aspergillus و Cladosporium و Rhizactonia) وقد كانت فطريات Penicillium و Cladosporium أكثرها تكرر وقد وصلت نسبة التكرار إلى 39.39 % و 21.12% على التوالي خلال الدوام و 20.51 % و 17.95 % على التوالي أثناء العطلة الربيعية ولم تظهر الفطريات التالية خلال الدوام وهي Alternaria و Stempphyllium و Trichoderma و Helminthosporium و Trichophyton بينما لم تظهر الفطريات Rhizopus و Aureobasidium خلال العطلة الربيعية.

يعود السبب إلى زيادة أعداد ابواغ الفطريات (بالتالي إلى زيادة عدد المستعمرات) أثناء الدوام إلى وجود الطلبة وحركتهم التي تؤدي إلى إثارة الغبار وما يحمله من أبواغ فطرية وعلى العكس من ذلك أثناء العطلة الربيعية والتي خلالها ترسبت الابواغ. وجد [16] ان فطر Penicillium أكثر الفطريات تكرارا في الهواء الداخلي للمساكن في إحدى مدن تركيا وقد وصلت نسبة التكرار إلى 28.61% يليه فطر 16.08% , Cladosporium بينما ذكر [17] ان فطر Cladosporium أكثر الفطريات تواجدا في هواء غرف معيشة الأطفال في تركيا. وعزل [18] فطر Cladosporium بنسبة تكرر وصلت الى 29.2% في إيران.

جدول(2) الفطريات المعزولة من هواء البناية القديمة لقسم علوم الحياة خلال العطلة الربيعية ودوام الطلبة.

انواع الفطريات		خلال الدوام				خلال العطلة الربيعية		
	الطابق الاول	الطابق الثاني	العدد الكلي	% للتكرار	الطابق الاول	الطابق الثاني	العدد الكلي	% للتكرار
Penicillium spp.	7	6	13	39.39	5	3	8	20.51
Aspergillus spp.	2	1	3	9.09	5	1	6	15.38
Cladosporium spp.	3	4	7	21.21	4	3	7	17.95
Alternaria alternate	-	-	-	0	2	2	4	10.25
Rhizoctonia solani	2	0	2	6.06	2	0	2	5.13
Rhizopus stolonifera	0	1	1	3.03	-	-	-	0
Aureobasidium pullulans	0	1	1	3.03	-	-	-	0
Stempphyllium spp.	-	-	-	0	3	1	4	10.25
Trichoderma spp.	-	-	-	0	1	1	2	5.13
Helminthosporium spp.	-	-	-	0	1	0	1	2.56
Trichophyton spp.	-	-	-	0	0	1	1	2.56
Yeast	4	2	6	18.18	2	2	4	10.25
المجموع	18	15	33	-	25	14	39	-

نتائج الجدول (3) توضح وجود اربعة انواع من الفطر Aspergillus في هواء ابنية قسم علوم الحياة وهي , A.flavus و A.fumigatus و A.niger و A.terreus وكان اكثر انواع الفطريات تواجدا A.niger (12 مستعمرة) يليه النوع A.flavus (6 مستعمرة).

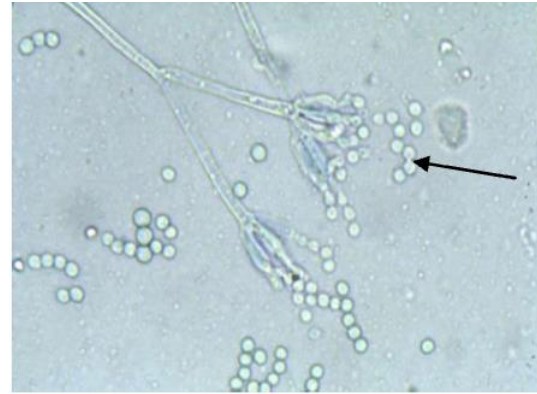
التعرض لآبواع فطريات *Aspergillus* يؤدي الى اصابة الاشخاص بالعديد من الامراض ومنها الربو والحساسية والجيوب الانفية (Asthma, Allergic and Sinusitis) ومن هذه الفطريات فطر *A.fumigatus*. [19]

الجدول (3). انواع فطر *Aspergillus* المعزولة من هواء ابنية قسم علوم الحياة.

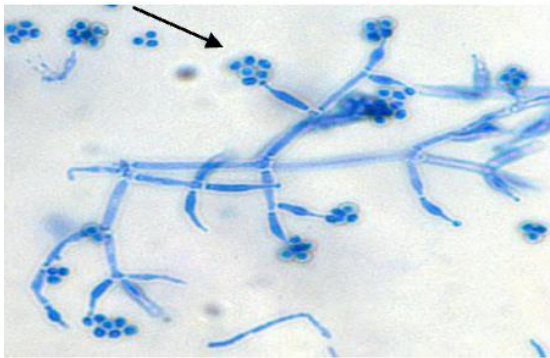
المجموع	البنية القديمة		البنية الجديدة		انواع <i>Aspergillus</i>	
	العطلة	خلال الربيعية	خلال الربيعية	خلال الدوام		
6		1	1	3	1	<i>A. flavus</i>
1		0	0	0	1	<i>A. fumigates</i>
12		4	2	4	2	<i>A. niger</i>
4		1	0	3	0	<i>A. terreus</i>
23		6	3	10	4	المجموع



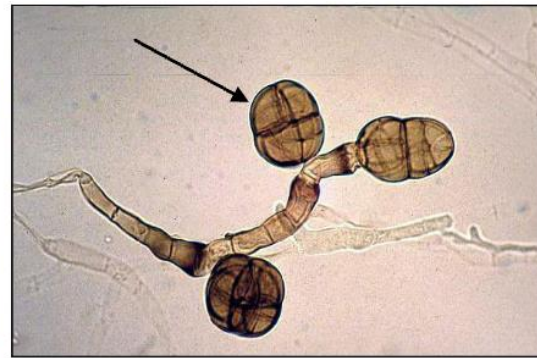
Rhizopus



Penicillium



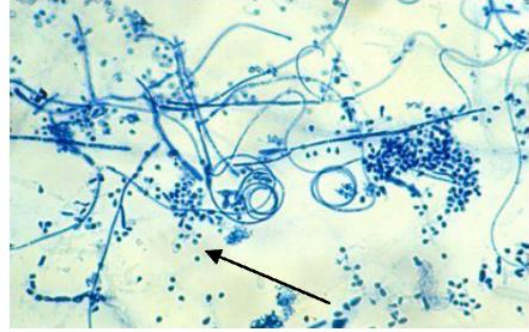
Trichoderma



Stemphylium



Ulocladium



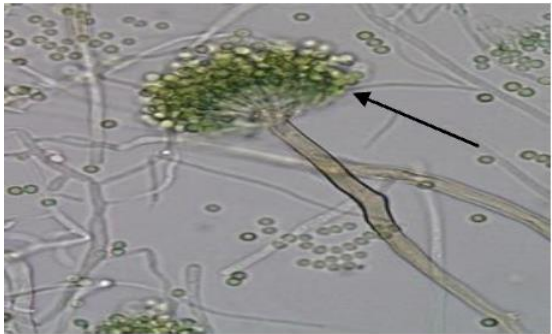
Trichophyton



Alternaria alternata



Rhizoctonia solani



Aspergillus flavus



Aureobasidium

الشكل (1) أشكال الفطريات المعزولة (تحت المجهر) من هواء البناية الجديدة والقديمة لقسم علوم الحياة خلال العطلة الربيعية وأثناء الدوام بعد العطلة.

السهم يشير الى الابواغ الكونيدية او الحواظف البوغية، (قوة التكبير 40X)

المصادر

1. Nakhilan A.M., "Medical Fungi". 1st Ed. Amman , Dejala house, 368 PP (2011) . (In Arabic) .
2. Jawetz E.; Chuenck J. L.; Felberg E. A., Demonstration of fungal proteinases during phagocytosis of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*., *J. Med. Vet. Mycol.*, 94:4-28 (1998).
3. Lehrer S. B.; Aukrust L.; Salvaggio J. E. , Respiratory allergy induced by fungi. , *Clin. Chest Med.*, 4: 23–41(1983).
4. Michael R. M. , Indoor mould development and dispersal. *Medical Mycology.*, 45:1-9 (2007).
5. Shelton B. G.; Kirkland K. H.; Flanders, W. D.; Morris, G. K. , Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States., *Appl. and Environ. Microbiol.* , 68(4) : 1743 – 1753(2002).
6. Alsanjiri I.I. ; Aljuburi K.M.T., Mycotoxins have their effects and risks ., Eba center for agricultural research ., The republic of Iraq (1988) (In Arabic) .
7. Hedayati M.T.; Mayahi S.; Aghil R.; Goharimoghadam K., Airborne fungi in indoor and outdoor of asthmatic patients' home, living in the city of Sari. Iran , *J. Allergy Asthma Immunol.*, 4 : 189–191(2005).
8. Turk J.L., Experimental researches on the causes and nature of *Catarrhus aestivus*., *J. R. Soc Med.*, 84(1): 61–62(1991).
9. Mashat B.H.H., Are you exposed to indoor fungi that cause special disease. , Department of environmental and health research institute of the custodian of the two holy mosques , Umm Al-Qura university, (16) 1: 27-44 (2013). (In Arabic) .
10. Torres-Rodríguez J.; Pulido-Marrero Z.; Vera-García Y. , Respiratory allergy to fungi in Barcelona, Spain: Clinical aspects, diagnosis and specific treatment in a general allergy unit., *Allergologia et Immunopathologia* ,40 (5):295–300(2002).
11. Straus D. , Molds, mycotoxins, and sick building syndrome. , *Toxicol. and Health*, 25(9–10):617–635 (2009).
12. Denning D.; O'Driscoll B.; Hogaboam C.; Bowyer P.; Niven R. ,The link between fungi and severe asthma: a summary of the evidence., *Eur. Respir. J.*, 27:615-626. (2006).
13. Ellis M.B. , "Dematiaceous Hyphomycetes"., Common Wealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England , 608 pp(1971).
14. de Hoog G.S. and Guarro J., "Atlas of Clinical Fungi". ,Centraalbureau voor schimmelcultures, Netherlands, 720 pp. (1995).
15. Pitt J.I. and Hocking A.D, "Fungi and Food Spoilage". 2nd. Gaithersburg, Maryland: Chapman and Hall, 593 pp.(1997).
16. Sen B. and Asan A. , Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag city (Turkey) : seasonal distribution and relationship with climatic factors. ,vol., 151: 209-219(2009).
17. Yazicioglu M.; Oner N.; Celtik C.; Okutan O.; Pala O, Sensitization to common allergens, especially pollens , among children with respiratory allergy in the Trakya region of Turkey. ,22 (4) : 90-183(2004).

18. Hedayati M.T. ; Mayahi S. and Denning D.W, A study on Aspergillus species in house of asthmatic patients from Sasi city-Iran and a brief review of the health effects of exposure to indoor Aspergillus. ,Environ.Monit. Assess.,168:481-487(2010).
19. Agarwal R.; Chakrabarti A.; Shah A.; Gupta D.; Meis J.F.; Guleria R.;Moss R.; Denning D.W. and For the ABPA, complicating asthma ISHAM working group, Allergic bronchopulmonary aspergillosis : review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria.Clinical and Experimental Allergy,43:850–873 (2013).