مجله ایمنی زیستی
دوره ۷، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۳

بررسی مقایسه‌ای الگوی گوناگونی آفلاتوکسین‌زایی در آسپرژیلوس‌های زیرجنس سیرکومداتی در بوم‌زاد شمال ایران

سامان ایوبی[1*]، نازنین بصیرت[2]، مطهره یوسفی پور[3]، آرش چایچی نصرتی[4]
[1]کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران
[2]کارشناس ارشد بیوشیمی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[3]کارشناس پرستاری دانشگاه آزاد واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران
[4]استادیار قارچ شناسی بالینی، دانشگاه آزاد واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

samanayoubi@yahoo.com

چکیده

این مطالعه با هدف مقایسه توکسین‌زایی آسپرژیلوس‌های بخش سیرکومداتی در زیستگاه شمال ایران، که از مهم‌ترین زیستگاه‌های ایران و محل تولید بسیاری از مواد غذایی است، انجام گرفت. نمونه‌ها از مراکز کشت و فرآوری، در سه منطقه جغرافیایی شرق گیلان، غرب گیلان و مازندران جمع‌آوری شده و سپس در بسترهای ویژه و استاندارد شده (ICPA) چاپک دوکس آگار، چاپک یست اکستراکت آگار (با و بدون ۲۰ درصد سوکروز)، مالت اکستراکت آگار و چاپک دوکس آگار (با و بدون ۲۰ درصد سوکروز)، ایزوله و شناسایی شدند. گونه‌های *آسپرژیلوس فلاووس*، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*، *آسپرژیلوس ونتی‌ای*، *آسپرژیلوس سوژه*، *آسپرژیلوس آلیاسئوس*، *آسپرژیلوس نایجر*، *آسپرژیلوس کربوناریوس*، *آسپرژیلوس فتیدوس*، *آسپرژیلوس اوکراسئوس*، *آسپرژیلوس ملئوس*، *آسپرژیلوس کاندیدوس* به دست آمده، برای اندازه‌گیری توکسین‌زایی، به بسترهای ویژه دیگری کشت داده شدند. سپس از آن‌ها عصاره سلولی تهیه شد و اندازه آفلاتوکسین موجود در عصاره‌ها، به روش الایزا رقابتی مستقیم سنجیده شد.۵۷ عصاره به‌دست آمده از ایزوله‌های توکسین‌زا که ۲۷مورد از هوای کشت‌زارها و۳۰ مورد از هوای کارخانه‌ها فرآوری شده بودند، در دو نوبت توسط دو کیت الایزا با نام‌های تجاری Ridascreen و AgraQuant مورد سنجش قرارگرفتند. میزان افلاتوکسین اندازه‌گیری شده در کشتزارها و کارخانه‌های شرق گیلان، از بقیه مکان‌ها بیشتر بوده است.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، *circumdati*، *Flavi* .

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها به‌همراه سایر متابولیت‌های قارچی، نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها، آلکالوئیدها و نظایر آن‌ها، ترکیباتی هستند که در مراحل پایانی رشد قارچ‌های رشته‌ای، به‌وسیله‌ی سلول‌های قارچی تولید می‌شوند و تحت عنوان متابولیت‌های ثانویه شناخته شده‌اند

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

(۲،۳).

مایکوتوکسین‌ها در تعداد زیادی از محصولات کشاورزی و مواد غذایی، در مناطق مختلف دنیا یافت می‌شوند. به‌طور کلی در طبیعت، بیشتر خرمن‌های غلات، دانه‌های روغنی، خشکبار، مواد انباری، میوه‌ها وصیفی‌ها قبل از برداشت، هنگام برداشت و بعد از آن در شرایط آب و هوای مختلف به خصوص در شرایط آب و هوایی معتدل، نیمه معتدل و استوایی، مستعد آلودگی‌های قارچی هستند (۵، ٦، ۱۱و ۱۵).

مایکوتوکسین‌ها، با استفاده از تغذیه و یا رهایی در هوای آزاد، وارد چرخه غذایی جانوران می‌شوند که بر سلامتی اثرات منفی دارند. بنابراین کنترل آن‌ها، از علل قاطع برای اقتصاد، سلامت جانوران، کیفیت تولید و سلامتی غذا می‌باشد (۱). از مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها مورد توجه‌ترین و خطرآورترین توکسین‌ها به شمار می‌روند (٤). به دلیل اهمیت زیاد آفلاتوکسین و قارچ‌های تولیدکننده آن، به‌خصوص آسپرژیلوس‌ها در بهداشت همگانی و مواد غذایی، این بررسی به منظور اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین موجود در بیوماس ایزوله‌های آسپرژیلوسی هوای کشتزارها و کارخانه‌های فرآوری مواد صورت گرفت و در آن برای شناسایی الگوی تولید آفلاتوکسین در آسپرژیلوس‌های جدا شده از شمال ایران، به بررسی مقدار تولید آفلاتوکسین و سم موجود در عصاره بیومس قارچی پرداخته شد (۸).

مواد و روش ها

از نخستین روزهای اردیبهشت ماه، تا روزهای پایانی مهر ماه، در استان‌های گیلان و مازندران با پیروی از دستور کار نمونه‌برداری از جایگاه‌های بسته و باز (بنگاه CBS) نمونه‌برداری انجام شد (۹، ۱۲و ۲۱).

ازآن‌رو که گمانی بسامان و داده‌هایی پذیرفتنی از پژوهش‌های گذشته، در گستره پژوهش و یا الگوهایی از بررسی‌های همانند در دیگر کشورها، در دسترس نبود تا چگونگی و اندازه گونه‌ها و گروه‌های قارچی هوازاد در جایگاه‌های نمونه‌برداری شناخته شده باشند، از هر پنجاه هکتار مربع کشتزار (۱۱۰ کشتزار) و نیز از هر کارخانه فرآوری (٦۰ کارخانه)، یک «گروه» نمونه برداشت شد. سه تا پنج روز پس از هر بارندگی، در ساعت ۱۵-۹، در هوای آفتابی، با دمای ۲۵±۳ درجه‌ی سانتی‌گراد (اندازه باد کمتر از ۳۰ متر بر ثانیه) با گذاردن پلیت‌های «درباز» (sattle plate) در بلندای ۱۱۰-۹۰ سانتی‌متر از کف هر جایگاه، نمونه‌برداری انجام پذیرفت (۱۸ و ۲۱). شش پلیت دارای مالت اکستراکت آگار، یست اکستراکت آگار، چاپک یست اکستراکت آگار، چاپک آگار، سابورو دکستروز آگار و پوتیتو دکستروز آگار، همگی آمیخته با ۱۰۰ppm کلرامفنیکل و ۵۰ppm تتراسایکلین، برای برداشت «یک گروه نمونه» به کار برده شدند (۹، ۱۰، ۱۸و ۲۱).

پلیت‌های دارای ۲۵-۱۵سانتی‌متر مکعب از آگار (۱۲-۱۰ سانتی‌متر قطر) پس از ۳۰، ٦۰ و ۹۰ دقیقه (٤٥۱ پلیت بازمانده در کشتزارها) و ۱۵، ۳۰ و ٦۰ دقیقه (٤٤۱ پلیت بازمانده در کارخانه‌ها) برداشته شده، پس از درب‌گذاری و نشان‌گذاری، درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی سوراخ‌دار جای داده و به آزمایشگاه فرستاده شدند (۹و ۲۱).

همه‌ی پلیت‌ها در دمای ۲۵±۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و به صورت هوازی گرمخانه گذاری شدند. بصورتی که یک پلیت از هر بستر کشت در تاریکی، دیگری در روشنایی و یک جفت در دوره‌ی نور- تاریکی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

نگهداری و دو پلیت بازمانده برای هر جایگزینی در تاریکی نگهداری شدند (۹، ۱۷و ۲۱).

تا ۱۵ روز در بازه‌های، ۷ و ۱۵ روز، همواره (و نیز روزانه) همه پلیت‌ها وارسی شدند، تا همه پرگنه‌های نورسته که به چشم آمده یا با کمک استریوسکوپ قابل مشاهده بودند، شناسایی، نشان‌گذاری و با سوزن شیشه‌ای استریل برداشت و در پلیت‌های از پیش آماده شده کشت شدند (۷، ۹، ۱۲و ۲۱).

در پلیت‌ها و لوله‌های دارای آگار اسلنت بات از بسترهای رشد مالت اکستراکت آگار، یست اکستراکت آگار، پوتیتو دکستروز آگار، کورن‌میل آگار، سابورو دکستروز آگار، چاپک یست آگار و چاپک دوکس آگار، همه نمونه‌های کپکی نو یافته، بازکشت شدند و با برنامه پیشین گرمخانه‌گذاری و هرگونه ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی در بازه‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ روز پیگیری و یادداشت شد (۹، ۱۲و ۲۱).

تا ۲۵ روز، همه پلیت‌های ماندگار و بهنجار، همچنان بررسی و سنجیده و جداسازی و بازکشت کپک‌ها چنان‌که شد، انجام و یافته‌های نوین یادداشت شد (۱۳و ۱٤).

سرانجام ۳٦۵ پلیت با پرگنه یگانه، از کشتزارها و ۳٤۷ پلیت با پرگنه یگانه از کارخانه‌ها تا پایان بررسی پرگنه‌های کپکی باز کشت شده دارای دیواره میانی ریسه‌ها به دست آمدند که بدون هرگونه آلودگی یا آغشتگی بودند.

در پایان از ۳۰۰ پرگنه آسپرژیلوسی، (از ٦۰۰ جدایه کپکی زایا) شمار ۱۵۰ پرگنه برگزیده در پلیت‌های دارای چاپک دوکس آگار، چاپک یست اکستراکت آگار (با و بدون ۲۰ درصد سوکروز)، مالت اکستراکت آگار و چاپک دوکس آگار (با و بدون۲۰ درصد سوکروز) برای بررسی‌های ریخت شناختی ماکرو و میکروسکوپی کشت شده، در دمای۲±۲۵ رشد داده شده و پس از ۳، ۷ یا ۱٤ و ۲۵ و گاه ۳۰ روز بررسی و همزمان اسلاید کالچر از هر نمونه بر بسترهای چاپک دوکس آگار و چاپک یست اکسترکت ۲۰ درصد سوکروز، برای هنجاری رشد با الگوی پیشین فراهم شده و گرمخانه گذاری در ۳۷°C انجام پذیرفت (۸، ۹، ۱۰، ۱۲و ۲۱).

برای بررسی‌های ریخت‌شناختی و عکس‌برداری ماکرو و میکروسکوپی، رویه و پشت پرگنه‌های یک هفته‌ای تا دو هفته‌ای (در آسپرژیلوس‌های سیاه پرگنه‌های دو تا چهار هفته‌ای) انتخاب شدند. اندازه‌گیری پهنای پرگنه، بررسی رنگ رو و پشت پرگنه، رنگدانه‌ها، اکسترولیت‌ها و عکس‌برداری از چترها، یاخته‌ها و توده‌های رشد یافته، ریسه‌ها، استیپ‌ها، تاج کنیدی‌ها و میکرومتری کنیدیوفورها، وزیکول‌های کنیدی‌ها و نیز بررسی پیدایش و میکرومتری سختینه‌ها (آسک‌ها) با استریوسکوپ انجام شد (۹و ۱۳).

در همه نمونه‌ها، با کمک لام‌های اسلاید کالچر، تیزمان و استیکی تیپ از کنیدیوفورها (استیپ)، وزیکول، تاج کنیدی‌ها، فیالیدها، متولاها، کنیدی‌ها و یا آسک‌ها و آذین همگی آن‌ها، میکرومتری یا عکس‌برداری با کمک میکروسکوپ میکرو آنالایزر (Leica®) انجام شد (۷، ۱۲و ۱۹).

برای فراهم‌سازی عصاره از جدایه‌های فراهم آمده، شگرد کشت در بستر مایع برای آماده‌سازی و انگیزش هرچه بیشتر و فراوان‌تر متابولیت‌ها برگزیده شد. یک لوپ فول دارای 10^5 فیالوسپور از آمیزه PBS و کنیدی‌های هر جدایه رشد یافته در پلیت چاپک

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

اکستراکت آگار، برداشت شده و به یک لوله فالکن ۵۰ میلی‌لیتری دارای بستر مایع چاپک دوکس براث، دارای یک درصد مالت اکستراکت آگار بازکشت شد (۲۲). لوله‌های بازکشت شده با ۲۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۳±۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و در دوره نور- تاریکی و هوازی گرمخانه‌گذاری و روزانه بازرسی شدند تا از پیدایش هرگونه تشک کپکی بر روی مایع بازداری شود و از روز سوم، به اندازه‌ای که بستر مایع همواره ۵۰ میلی‌لیتر باشد، بستر مایع به همراه یک درصد مالت اکسترکت آگار بازمانده به لوله‌ها افزوده شد (٦٤، ٦٣و ۳۸).

پس از هفت روز، توده شناور یا ته‌نشین در مایع که همان رشته‌های نوزاده و کوچک (Germ tube) قارچی کپکی بودند، با کمک سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه تا ۱۵ دقیقه ته‌نشین و برداشت شدند (۱۳). توده کپک رشته‌ای برداشت شده، سه بار پیاپی با ۲۵ میلی‌لیتر PBS با کمک سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور تا ۱۵ دقیقه) شستشو و توده‌های شسته شده و خیس در سرمای ۲۰- درجه‌ی سانتیگراد (پس از نشان‌گذاری) نگهداری شدند (۱۳ و ٧٤).

پس از یخ‌زدایی نمونه‌های رشته‌های کپکی خیس در یخدان یخچال ۸-٤ و گرمخانه ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در ٦ ساعت هر توده تا ٤٨ ساعت در دسیکاتور خشک و سپس ۲ گرم از آن برداشت شد. توده هر رشته کپکی خشک در یک لوله فالکن ۱۵ میلی‌لیتری سه بار و هر بار سه بار پیاپی (هر ۷ دقیقه) با ۵ میلی‌لیتر نیتروژن مایع آمیخته و با کمک دستگاه هم‌زن لوله و گویچه‌های شیشه‌ای (پرل) خرد و در هر بار ۲۵ دقیقه خردسازی توده انجام شد. پس از آن‌که ۷۰-(٦٠)-۵۰ درصد خردشدگی رشته‌ها در میدان میکروسکوپی لام نیوبار فراهم آمده در یک لوپ فول از آمیزه گرد کپکی در PBS دیده می‌شد، به هر لوله فالکن، ۵ میلی‌لیتر از بافر نمونه‌گیری و یک میلی‌لیتر استن سرد افزوده و با کمک سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ تا ۱۵ دقیقه جداسازی صورت گرفت. محلول رویی و ته‌نشین درشت‌تر جداسازی و در لوله دیگری پس از نشان‌گذاری در سرمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (٧٤و ۵۸).

جهت استانداردسازی غلظت عصاره‌ی سلولی با هماهنگ‌سازی اندازه پروتئین، هر آمیزه به دست آمده از هر جدایه آسپرژیلوسی با روش برادفورد اندازه‌گیری انجام و نمونه‌های غلیظ تا اندازه ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر رقیق شدند. نمونه‌های رقیق، با کمک ۵ برابر استن سرد و یک برابر نمونه در سرمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد یک تا سه روز نگهداری و سپس در دور ۲۰۰۰۰ تا ۲۰ دقیقه در سرمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. از ته نشست، برداشت انجام شده و در نمونه‌های غلیظ رقیق‌سازی و در نمونه‌های رقیق، دوباره غلیظ‌سازی به همین روش انجام شد تا همه افشره‌های نمونه‌های آنتی‌ژنی، دارای ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پروتئین تام باشند (۱۳، ۷۱ و۵۷).

روش کار الایزا با استفاده از کیت ریدا اسکرین

با پیپت ۵۰ میکرولیتر استاندارد یا نمونه آماده شده، به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد. سپس به هر چاهک، ۵۰ میکرولیتر آنزیم کونژوگه اضافه شد. بعد به هر چاهک۵۰ میکرولیتر محلول آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین اضافه شد،به آرامی محتویات پلیت مخلوط شد. سپس برای ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه، و مایع درون چاهک‌ها دور ریخته شد. همه‌ی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

چاهک‌ها با بافر شستشو پر و دوباره خالی شد. عمل شستشو دوبار انجام پذیرفت. به درون هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترا/کروموژن اضافه و برای ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده اضافه شده و سپس جذب در ٤٥٠nm انجام شد.

روش کار الایزا با استفاده از کیت AgraQuant

تعداد مناسب استریپ‌های که پایه آن‌ها آبی رنگ بود در مکان خود قرار گرفت. به‌همان تعداد که در فوق استریپ‌های آبی برداشته شد، استریپ‌های کوت شونده به آنتی‌بادی نیز در قالب مخصوص خود قرار گرفت. سپس ۲۰۰µL از کونژگه، درون هر کدام از چاهک‌های استریپ‌های آبی رنگ وارد شد. ۱۰۰µL از هر محلول استاندارد و نمونه به ۲۰۰µL از کونژگه موجود در چاهک‌ها اضافه شد. به سرعت ۱۰۰µL از محتویات هر چاهک برداشته شد و به پلیت حاوی استریپ‌های کوت شونده به آنتی‌بادی وارد و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس محتویات چاهک‌ها تخلیه شد. به‌طور کامل همه چاهک‌ها با آب مقطر یا آب دیونیزه پر شد. سپس مایعات درون چاهک‌ها با عمل dumping از درون چاهک‌ها خارج شد. عمل شستشو ۵ مرتبه انجام پذیرفت. سپس ۱۰۰µL از سوبسترا درون هر یک از چاهک‌ها وارد و ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس ۱۰۰µL از محلول متوقف کننده، درون هر کدام از چاهک‌ها وارد شد. در طول موج ٤٥٠ نانومتر، جذب و غلظت AFB1 به‌وسیله الایزای ریدر اندازه گیری شد.

نتایج

در این بررسی حجم نمونه ۵۷ مورد بوده است که یک نوع سم در دو مکان (هوای کشتزارها و کارخانه‌های فرآوری) و در سه مکان جغرافیایی مورد آزمون قرار گرفته است. این بررسی در سه منطقه شمالی ایران (مازندران، شرق گیلان و غرب گیلان) صورت گرفته است. از کل نمونه‌ها که ٤.٤٧ درصد (۲۷ عدد) از هوای کشتزارها و ۵۲,٦ درصد (۳۰ عدد) از هوای کارخانه‌های فرآوری جداسازی شده‌اند (شکل ۱)

از ٤٧,٤ درصد نمونه‌ای که از هوای کشتزارها به دست آمده است، ١٤ درصد از کشتزارهای غرب گیلان، ۲۸,۱ درصد از کشتزارهای شرق گیلان و ۵,۳ درصد از کشتزارهای مازندران به دست آمده‌اند. از ۵۲,٦ درصد نمونه‌ای که از هوای کارخانه‌های فرآوری به دست آمده‌اند، ۷ درصد از کارخانه‌های غرب گیلان،٤٣,٩٠ درصد از کارخانه‌های شرق گیلان و ۱,۸ درصد از کارخانه‌های مازندران به دست آمده‌اند. بیشترین نمونه‌ها بین کشتزارها، مربوط به شرق گیلان و در مورد کارخانه‌ها، مربوط به شرق گیلان می‌باشد. ولی در مجموع بیشترین نمونه‌های آسپرژیلوسی از کارخانه‌های شرق گیلان به دست آمده‌اند (شکل ۲).

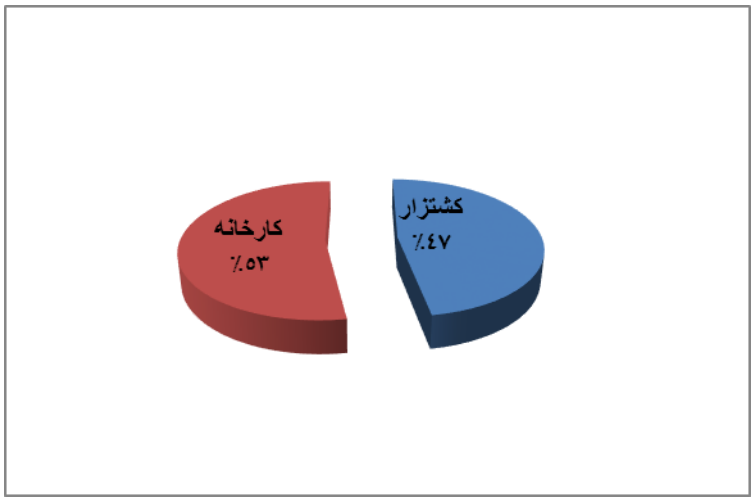
۳۵,۱ درصد از نمونه‌ها توکسینی تولید نکرده بودند. (حداقل سم قابل اندازه‌گیری ۲ppb بوده است). ٦٤,۱ درصد توکسین تولید کرده بودند که از این میزان ۳۰,۷ درصد ازآن‌ها بین ۱۰-۰ppb، ۵,۳ درصد بین ۲۰-۱۰ppb، ۳.۵ درصد بین ۳۰-۲۰ppb، ۱۷,۵ درصد بین ٤٠-۳٠ppb ، ۷,۹ درصد بین ٥٠-٤٠ppb توکسین تولید کردند. بیشترین مقدار سم تولیدی، در محدوده ۱۰-۰ppb می‌باشد (شکل ۳).

۳۵.۱ درصد از نمونه‌ها تولید توکسین نداشتند، که ۵,۳ درصد از نمونه‌های جدا شده از کشتزارهای غرب

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

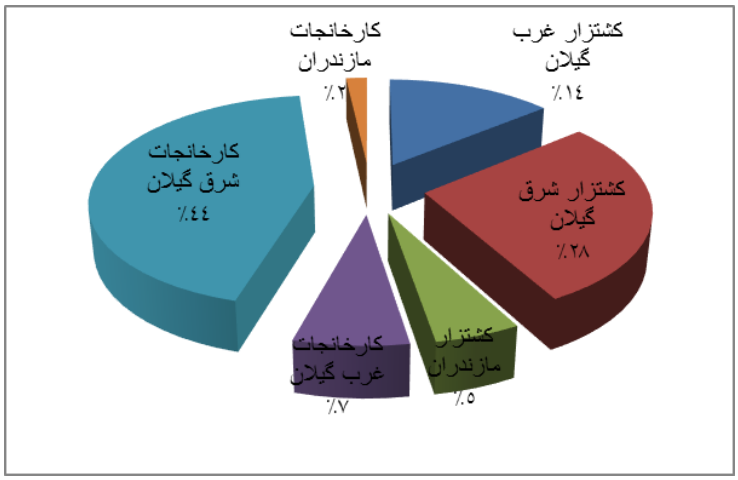
گیلان، ۹,٦ درصد از نمونه‌های جدا شده از کشتزارهای شرق گیلان، ۱,۸درصد از نمونه‌های جدا شده از کشتزارهای مازندران و ۱,۸درصد از نمونه‌های جدا شده از کارخانه‌های غرب گیلان، ۱٦,۱درصد از نمونه‌های جدا شده از کارخانه‌های شرق گیلان بودند. از ٦٤,۹ درصد نمونه‌هایی که توکسین تولید کرده‌اند، ۳۰,۷ درصد در محدوده ۱۰ppb-۰ توکسین تولید کرده بودند که از این مقدار ۵,۳ درصد از جدایه‌های کشتزارهای غرب گیلان، ۸,۸ درصد از جدایه‌های کشتزارهای شرق گیلان، ۰,۹ درصد جدایه‌های کشتزارهای مازندران و ۲,٦ درصد از جدایه‌های کارخانه‌های غرب گیلان، ۱۲,۳ درصد از جدایه‌های کارخانه‌های شرق گیلان، ۰,۹ درصد از جدایه‌های کارخانه‌های مازندران بودند. ۳,۵ درصد در محدوده ۲۰ppb- ۱۰ توکسین تولید کرده بودند که از این مقدار، ۰,۹ درصد در جدایه‌های کشتزارهای غرب گیلان و ۰,۹ درصد در جدایه‌های کارخانه‌های غرب گیلان و ۱,۸درصد از کاخانه‌های شرق گیلان یافت شده بودند. ۵,۳ درصد، در محدوده ۳۰ppb-۲۰ توکسین تولید کرده بودند که از این مقدار ۲,٦ درصد از جدایه‌های کشتزارهای شرق گیلان، ۰,۹ درصد از نمونه‌های جدا شده از کشتزارهای مازندران و ۱,۸ درصد از جدایه‌های کارخانه‌های شرق گیلان بودند.۱۷,۵درصد در محدوده ٤۰ppb-۳۰ توکسین تولید کرده بودند که از این مقدار ۱,۸درصد از جدایه‌های کشتزارهای غرب گیلان، ۵,۳ درصد از جدایه‌های کشتزارهای شرق گیلان، ۱,۸ درصد از جدایه‌های کشتزارهای مازندران و ۱,۸ درصد از جدایه‌های کارخانه‌های غرب گیلان، ٦,۱ درصد از جدایه‌های کارخانه‌های شرق گیلان، ۰,۹ درصد از جدایه‌های کارخانه‌های مازندران بودند. ۷,۹ درصد در محدوده ٥۰ppb-٤۰ توکسین تولید کرده بودند که از این مقدار ۰,۹ درصد، از جدایه‌های کشتزارهای غرب گیلان، ۱,۸درصد، جدایه‌های کشتزارهای شرق گیلان و ۵,۳ درصد، از جدایه‌های کارخانه‌های شرق گیلان بودند (شکل ٤).



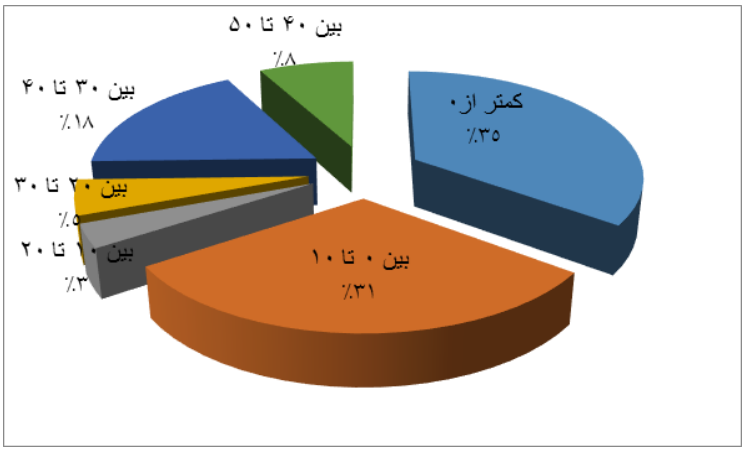
شکل۱- شکل ترکیبی بین تعداد نمونه‌ها و مکان‌های مورد بررسی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

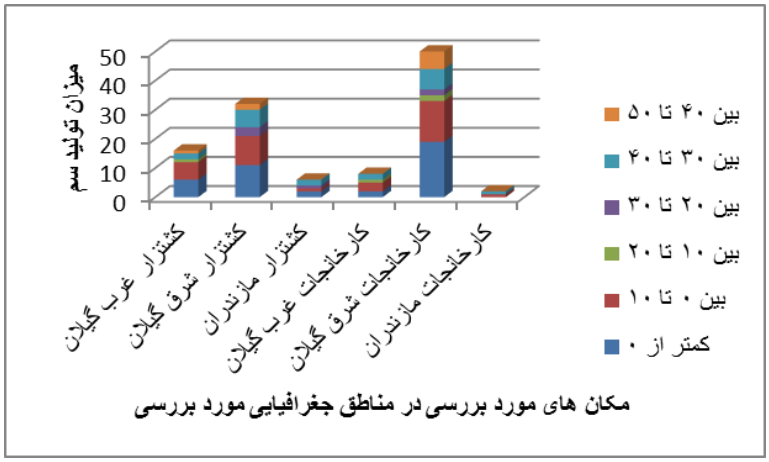
[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]



شکل۲- شکل ترکیبی بین تعداد نمونه‌ها و مکان‌های جغرافیایی



شکل۳- شکل ترکیبی بین تعداد نمونه‌ها و محدوده میزان توکسین



شکل ۴- شکل ترکیبی بین مکان‌های مختلف و محدوده سم تولیدی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

بحث و نتیجه‌گیری

بیشترین نمونه‌های آسپرژیلوسی از کارخانه‌های شرق گیلان به دست آمده‌اند که می‌تواند یکی از عوامل مخاطره‌آمیز بهداشتی –میکروبی فرآورده‌های چای باشد (شکل ۲). بیشترین مقدار سم تولید شده توسط ایزوله‌های تولید کننده سم، در محدوده ۱۰ppb-۰ بود، که با توجه به کف اندازه استاندارد قابل پذیرش آغشتگی به آفلاتوکسین در خوراکی‌ها، (بر اساس استانداردهای ملی ایران ۵ppb)، باید نسبت به نظارت دقیق و استاندارد نمایی آفلاتوکسین در فرآورده‌های چای اقدام جدی به‌عمل آید (شکل ۳). با توجه به نتایج به دست آمده، اثبات می‌شود که شرق گیلان و سپس غرب گیلان، مخاطرات بهداشتی بیشتری را از نظر امکان آلودگی فرآورده‌های چای به سم آفلاتوکسین خواهند داشت و غرب مازندران، می‌تواند یک محدوده جغرافیایی نسبتا امن به شمار آید (شکل ٤).

سپاسگزاری

در پایان از استادان مهربانم خانم دکتر لیلا مدیری و جناب آقای دکتر آرش چایچی نصرتی، به‌خاطر زحماتی که در این کار پژوهشی کشیده‌اند، کمال تشکر را داشته و همچنین از مرکز تحقیقاتی ایمنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، به‌خاطر در اختیار گذاشتن امکانات لازم برای این کار تحقیقاتی تشکر و قدرانی می‌شود. همچنین پیشنهاد می‌شود که همین پروژه، در مورد میزان سم تراوش شده به بستر کشت نیز، انجام پذیرد.

فهرست منابع

References

۱. ادریسی. ج (۱۳۸۳) .اداره ی کل دامپزشکی فارس.

2. Alborzi, S., Pourabbas, Rashidi,M., Astaneh, B.(2006). Aflatoxin M1 contanination in pasteurized milk in shiraz (south of Iran). Food control, 17(7), 582-584.

3. Allcroft, R., Carnaghan, R.B. (1963). Groundnut toxicity: an examination for toxin in human food products from animales feed toxic groundnut meal. veterinary Record 75,259-263.

4. Ausubel, F.M.,Brent, R.,Kingston, R.E.,Moore, D.D.,Seidman, J.G., Smith , J.A. and Struhl, K. (2002). Short Protocols in Molecular Biology (5th ed), J.Wiley Sons.Vol :1,2:unit :1 and 10 pp.

5. Bennet, J. w. and klich, M. (2003). Mycotoxins. Clinical. Microbial Review; 16, 497-516.

6. Cigić, I.K. and Prosen, H., (2009). An Overview of Conventional and Emerging Analytical Methods for the determination of mycotoxins, Int. J. Mol. Sci., 10, 62-115; doi: 10.3390/ijms10010062.

7. Gams, W., Hoekstra,E.S.and Aptroot, A. (eds.) (1998). CBS Course of Mycology (4th ed) Centraalbureu Voor Schimmelcultures, Baarn,1- 165 pp.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

8. Green, B.J., Mitakakis, T.Z.and Tovey, E.R. (2003). Allergen detection from 11 fungal species before and after germination.J. Allergy. Clin. Immunol. 111: 285 – 9.

9. Klich, M.A.(2002a). Identification of Common Aspergillus Species. C.B.S, Utrecht, Netherlands .1-116 pp.

10.Klich, M.A. (2002 b). Biogeography of Apsergillus species in soil and litter. Mycologia. 94 :18-34.

11. Koong, L. J. (2003). Mycotoxins in Animals. In Mycotoxins Risks in Plant, Animal and Human System. ed. Chimeni, L. M. PP. 34-46. IOWA: Council for Agricultural Science and Technology.

12. Kozakiewicz, Z. (1989). Aspergillus species on stored products. Mycological Papers .161: 1 – 188 pp.

13. Medina M,L.,Haynes P.A.,Breci , L.and Francisco W.A.(2005). Analysis of secreted proteins from Aspergillus flavus. Proteomics. 5: 3153-61.

14. Moallaei, H., Zaini, F., Pihet, M., Mahmoudi, M.and Hashemi, J. (2006). Isolation of keratinophilic fungi from soil samples of forests and farm yards. Iran. J. Pub. Health. 35: 62 – 9.

15. Murphy P., Hendrich S, Landgren C, and Bryant C.M., (2006). editor, Food mycotoxins: an update vol. 71, nr. 5,—journal of food science 51-65 .

16. Oda, K.,Kakizono, D.,Yamada, O.,Iefuji, H.,Akita, O.and Iwashita, K.(2006). Proteomic analysis of extracellular proteins from Aspergillus oryzae under submerged and solid – state culture conditions. Appl. Environ. Microbiol. 72: 3448 – 57.

17.Odds, F.C.,Ryan, M.D.and Sneath, P.H.(1983). Standardization of antigens from Aspergillus fumigatus. J. Biol. Stand. 11: 157 – 62.

18. Pitt, J.I.and Hocking, A.D. (1997). Fungi and food spoilage. Blackie Academic & Professional, London. (2nd ed). 1- 593 pp.

19. Powell, K.A.,Renwick, A.and Peberdy, J.F.(eds.)(1994). The genus Aspergillus: from taxonomy and genetics to industrial application. Plenum press, New York.1- 374 pp.

20. Puente, P., Ovejero, M.C.,Fernandez, N.and Leal, F.(1991). Analysis of Aspergillus nidulans conidial antigens and their prevalence in other Aspergillus species. Infect. Immuni. 59: 4478 – 85.

21. Samson, R.A., Houbraken, J., Summerbell, R.C.,Flannigan, B,and Miller, J.D.(2001). Common and important spercies of fungi and actinomycetes in indoor environments. In: Microorganisms in Home and Indoorwork Environments (eds. B. Flannigan, R.A. Samson and J.D. Miller). Taylor and Francis, New York. p: 287 – 292.

22. Shadzi, S., Zahraee, M.H.and Chadeganipour, M. (1993). Incidence of airborne fungi in Isfahan, Iran. Mycoses. 36: 69 – 73.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]

Comparative Study of Different Patterns of Aflatoxinogenicity in Subfamily Circulatory Aspergillosis in Northern Iran

Saman Ayoubi [1]*, Nazanin Basirat [2], Motahareh Yousefipour [3], Arash Chaychi Nosrati [4]
[1] M.Sc of Department of Microbiology, Lahijan Islamic Azad University, Lahijan, Iran
[2] MSc of Biochemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3] Nursing Expert of Lahijan Azad University, Lahijan, Iran
[4] Assistant Professor of Clinical Mental Clinic, Islamic Azad University, Lahijan, Lahijan, Iran

samanayoubi@yahoo.com

Abstract
This study aimed to compare the virulence of Aspergillus toxins sircumdate sector in the north of the most important habitats and the habitats of many food products was conducte .samples of cultivation and processing centers in three geographic regions east gilan, mazandaran and gilan west collected. And in particular contexts and standardized (ICPA) chapk deux agar, chapk intended extract agar (with and without 20 % sucrose), malt extract agar agar and chapk deux (with and without 20 % sucrose) were isolated and identified. the species *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus umigatus*, *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus melleus*, *Aspergillus alliaceus*, obtained by measuring the toxin job to another special substrates were cultured , then, cell extracts were prepared, the size of aflatoxin in the extracts was determined by direct competitive ELISA, 57 extracts obtained of toxin -producing strains of the 27 cases of air fields and 30 of the air processing factories were on two occasions by both ELISA kit by brand Ridascreen and AgraQuant were assessed . Aflatoxin levels measured farms and factories in east gilan the rest are more places.
Keywords: Aflatoxin, *circumdati*, *Flavi*.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.8.8]