تحديد الأنواع الميكروبية المنتجة للأمينات الحيوية في بعض أنواع الاجبان وتقدير تأثيراتها الصحية في الأرانب المختبرية

ياسمين إسماعيل خليل[1] وفاروق محمود كامل وكركز محمد ثلج
قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق.

الخلاصة

أُجريت الدراسة في مختبر الدراسات العليا في قسم علوم الأغذية– كلية الزراعة– جامعة تكريت ومختبرات كلية التربية– جامعة كركوك بهدف الكشف عن تراكيز بعض أنواع الأمينات الحيوية **(Biogenic amines)** في 25 عينة من الأجبان في الأسواق المحلية لمدينة تكريت باستعمال تقنية كروماتوكرافيا السائل ذا الاداء العالي**(LC-mass)**. وتشخيص الأنواع البكتيرية وتحديد المنتجة منها للأمينات الحيوية من خلال تقدير تراكيزها المنتجة مختبرياً فضلا عن تحديد تأثيراتها الصحية عند اعطائها فمويا بتراكيز مختلفة للأرانب المختبرية.

بينت النتائج احتواء 8 عينات من الأجبان على أنواع الامينات الحيوية وبنسبة (32%). كما تبين إن الأنواع البكتيرية المنتجة لها كانت من الأنواع *Lactobacillus fermentum* و*Lab . delibricii sub. bulgaricus* و*Lab brevis* و*Leuconostoc mesentroides* و *Staphylococcus aureus* و *Staph. epidermidis* و *Streptococcus. Pyogenes* و*Listeria. Monocytogenes* و *Klebsiella .oxytoca*، وقد تميزت *Leu.mesentroides* بأنها الأكثر إنتاجاً للامين الحيوي مختبريا حيث سجلت إنتاج لكل الأمينات المستخدمة وبأعلى التراكيز حيث بلغت (93,5– 40,8 –30,1–42,7) مايكروغرام/غرام للهستامين والتيرامين والكادافيرين والتربتامين على التوالي. كما تبين من النتائج ان تأثير تجريع مجاميع الأرانب بثلاث تراكيز من الامينات عند 10، 25و 50 مايكروغرام/ مل في حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في قيمة خضاب الدم Hb والاعداد الكلية لكريات الدم الحمر RBC وزيادة الأعداد الكلية لخلايا الدم البيضWBC وارتفاع نسبة الخلايا اللمفية الذي قابلها انخفاض نسبة العدلات معنويا عند التركيز50 مايكروغرام/ مل مقارنة مع مجموعة السيطرة. ولم يحصل التغير بشكل معنوي في حالة التركيزين 10 و25 مايكروغرام/ مل كذلك حصل انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي والألبومين وارتفاع مستوى الكلوبيولين واليوريا مع زيادة تركيز الأمينات المجرعة.

الكلمات المفتاحية:
الامينات الحيوية، الارانب المختبرية، الاجبان.

للمراسلة:
ياسمين إسماعيل خليل
قسم علوم الأغذية– كلية الزراعة– جامعة تكريت– **العراق.**

الاستلام: 15/ 3 / 2016
القبول: 20 / 3 / 2017

Identify Microbial Species Produced Biogenic Amines in Some Types of Cheeses and Assay the Health Effects in Laboratory Rabbits

Yasmeen I. Khalil, Farooq M. Kamel and Karkaz M. Thalij
Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University, IRAQ.

ABSTRACT

The study was conducted in the laboratory of graduate studies in the Department of Food Science, Faculty of Agriculture, University of Tikrit and laboratories of Education Faculty inUniversity of Kirkuk.In aimes to detecting the presence of Biogenic amines formed in 25 samples of ripping cheeses collecting from locally markets in Tikrit city.used of Liquid Chromatography-mass spectroscopy (LC-mass), and identification of microbial species that contaminated of samples and capable to produced biogenic amines types through laboratory cultured in chesse samples as media.As well as determining the physiological effects in Rabbits laboratories after orally injection.

Results showed that 8 cheese samples were contamination with Biogenic amine (32%). Also appear that bacterial isolates which contamination of samples and capable to produced the biogenic amines was *Lactobacillusfermentum*, *Lab. delibricii* sub. *bulgaricus*, *Lab.brevis* and *Leu.mesentroides* and *Staph.aureus*, *Staph. epidermidis*, *Streptococcuspyogenes*, *Listeriamonocytogenes*,

Key words:
Biogenic Amines, Cheeses, Laboratory Rabbits.

Corresponding Author:
Yasmeen I. Khalil
Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University, **IRAQ**.

Received: 15/3/2016
Accepted: 20/3/2017

[1] البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

Klebsiellaoxytoca.the isolates appear as most produced the concentration from biogenic amines was *Leu.mesentroides*.the results also show the influence of orally dosage at three concentrations of biogenic amines at 25, 10 and 50 µg/ml for laboratory rabbitswere caused a significantly (P<0.05) reduction on the value of Hemoglobin (Hb) and the total counts of (RBCs) Red Blood Corpuscular and an increase in the total count of white blood cells and lymphocytes, which offset a decline in the proportion of neutrophils at 50 µg/ml compared with values in the control group. While didn't get an effected change with the 10 and 25µg/ml. Also were decreased of total protein, albumin and increased of globulin and urea levels with increasing the concentration of biogenic amines.

المقدمة:

ازداد في الآونة الأخيرة تعدد وتنوع الامراض الناتجة عن تلوث الأغذية بأنواع الأحياء المجهرية أو المتايضات الناتجة عنها كالسموم البكتيرية أو الفطرية. إضافة إلى الامراض الناتجة عن التلوث بأنواع العناصر الثقيلة أو المبيدات والمطهرات وغيرها التي ترتبط بمصادر تأثير متعددة يمكن ان ينتج عن استهلاكها مع الغذاء في إحداث تأثيرات ضارة أو غير مرغوبة. كما ان تأثيرها يمكن ان يكون ذا أهمية في تغير نوعية الغذاء ومدى أمكانية الاستفادة منه (يوسف و التارقي، 2005) .

تبين من الدراسات الميدانية في وجود علاقة بين بعض حالات التسمم الغذائي واستهلاك الأغذية التي تتواجد فيها المركبات الامينية. حيث إن هذه المركبات(Biogenic amines) كان لها القدرة في إحداث التسمم وظهور أعراض مرضية متنوعة. وان حالة التأثير منها يكون ناتجا من النشاط البايولوجي التي تتميز به كل نوع من الأمينات الحيوية اعتمادا إلى نوعية التركيب الكيميائي المكون لها والذي يختلف اعتمادا إلى نوع الأحماض الامينية والكائن المجهري المنتج لها والملوث للغذاء(Shalaby،1996). تعرف الأمينات الحيوية بأنها المركبات العضوية القاعدية (نتروجينية) ذات الأوزان الجزيئية الواطئة التي تتكون بشكل رئيسي خلال عملية نزع مجموعة الكاربوكسيل (Decarboxylation) للأحماض الامينية الحرة.تأتي أهمية دراسة تراكيز الأمينات الحيوية وتأثيراتها الصحية من تأثيرها المباشر في الجهاز الوعائي للإنسان (Human Vascular) وكذلك في عمل الجهاز العصبي (Neuron system)، فضلا عن توفر انواع المواد الغذائية في الاسواق العراقية التي يمكن ان تكون بيئة مناسبة للتلوث بأنواع الأحياء المجهرية المنتجة لها وبتراكيز يمكن ان تكون ذا تأثيرات سلبية في صحة الانسان المستهلك لها . لاسيما من الأجبان التي تكون صناعتها غير خاضعة للرقابة والسيطرة النوعية (Stadnik و Dolatowski ، Spano2010;وآخرون ، 2010) لذا كان من الضروري أن يتم في هذه الدراسة الكشف عن تراكيز الأمينات الحيوية في عينات بعض الأجبان في الأسواق العراقية وتحديد أنواع الأحياء المجهرية الملوثة والقادرة على إنتاجها. فضلا عن تقدير تأثير تلك الأمينات عند إعطائها فمويا في تراكيز محددة في بعض المعايير الفسلجية للأرانب المختبرية.

المواد وطرائق البحث

جمع العينات:تم جمع 25 نموذج من الأجبان من الأسواق، بواقع مكررين وهي (البقرة السعيدة وياسمين و كرافت وSmile وهنا وجبنة دانون قرص و جبنة دانون مبشورة)، جميعها كانت معبأة بعبوات معدنية أو ورقية مصفحة بأشكال وأحجام مختلفة، وفي كل مرة يتم فيها جمع العينات يتم نقلها من السوق المحلية إلى المختبر مباشرة، وحفظها مبردة لحين أجراء الفحوصات المختبرية اللازمة عليها وكما في Roberts وGreenwood، 2003) .

عزل وتشخيص البكتيريا:بعد إعداد عينات الأجبان تم زرع التخفيفين الاخيرين منها على الأوساط الزرعية الملائمة التي كانت (MacConkey agar, MRS agar, Nutreintagar, Cetrimide agar, Blood base agar, mannitol salt agar) المجهزة من شركة Oxoid الامريكية. بعد ظهور العزلات تم تنقيتها على الأوساط لكل نوع ثم التشخيص للعزلات من خلال الصفات الظاهرية والمجهرية والصفات المزرعية والكيموحيوية اعتماد على مصنف بيركي في (Holt وآخرون، 1994 ، Carr وآخرون ،2000) ولجميع العزلات.

تحديد تراكيز الامينات الحيوية:استخدمت تقنية الكروماتوكرافيا السائلة من خلال جهاز LC-mass لتقدير الأمينات الحيوية في عينات الاجبان وهي (الهستامين والتايرامين والتربتامين والكادافيرين) واعتماداً على ما ذكر في (Hwang وآخرون ، 1995) والمحورة من قبل (Ozagul واخرون ،2002).

تحديد قابلية العزلات البكتيرية في إنتاج أنواع الامينات الحيوية:تم الكشف عن قابلية الأنواع البكتيرية المعزولة في إنتاج أنواع الأمينات الحيوية الأربعة من خلال تنميتها على بيئة المنتج المعقم اذ كانت التنمية عند 35 ° م لمدة 48 ساعة. بعدها تم سحب 10 مل من كل وسط تنمية واجري لها الاستخلاص للكشف عن الامينات الحيوية باستعمال تقنية كروماتوكرافيا السائل في جهاز LC-mass وكما ذكر في الطريقة أعلاه.

التجربة البايولوجية :استعمل في هذه الدراسة 52 أرنباً من سلالة Albino بيضاء اللون بعمر (5-6) أسابيع، وبمعدل وزن (600 – 750) غم، قسمت الحيوانات عشوائياً الى ثلاثة عشر مجموعة وبواقع 4 أرانب لمكررين لكل مجموعة تضمن كل مكرر أرنبين. تم إعطاء الأمينات الحيوية من خلال التجريع الفموي بعد اذابة المادة الاصلية(الامينات الحيوية) للحصول على التراكيز المقترحة للتجربة وهي عند 10 ، 25 و 50 (مايكروغرام/ مل) في 2 مل من الماء المقطر الذي أعطي على وجبتين صباحية ومسائية/ يوم/ حيوان . استمرت التجربة لمدة28 يوماً وقد روعيت ظروف تربية الحيوانات المختبرية كما مشار اليه في (NAS-NRC, 2002).

فحوصات الدم (Tests of blood):تم عد كريات الدم الحُمر (RBC) والعد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض WBC باستخدام الشريحة الخاصة والمسماة Hemocytometer chamber وكما جاء فيColes (1986) ، أما تقدير نسبة خضاب الدم (Hb) اعتمدت طريقة Cynmethemoglobinالموصوفة من قبل Tietz (2005) .

اختبارات الدم الكيموحيوية (Blood Biochemical Assay):

تقدير تركيز البروتين الكلي في مصل الدم :استخدمت طريقة بايوريت method Biuret لتقدير تركيز البروتين الكلي في مصل الدم، إذ تم استخدام عدة التحليل الجاهزة (Kit) وكما في Young (1995).

تقدير تركيز الالبومين في مصل الدم : تم تقدير تركيز الالبومين باستخدام عدة التحليل الجاهزة Kit المجهزة من شركة SPINREACT الاسبانية، وكما جاء في(Tietz،2005) .

تقدير تركيز الكلوبيولين في مصل الدم :تم احتساب تركيز الكلوبيولين من خلال الفرق بين البروتين الكلي والألبومين وكما جاء في (Tietz،2005).

تقدير تركيز اليوريا:استخدمت طواقم محاليل قياسية (Kits) مجهزة من شركة Spinrect(اسبانيا) لحساب اليوريا Urea (ملغم/ ديسلتر) (Bishop وآخرون ،2010).

التحليل الإحصائي:حللت نتائج التجارب بإستخدام النموذج الخطي العام (Linear Model General) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز (SAS ، 2001) لدراسة تأثير العوامل على وفق التصميم العشوائي الكامل CRD كما أجري إختبار دنكن (Duncann،1955)لتحديد معنوية الفروق مابين متوسطات العوامل المؤثرة على الصفات المدروسة عند مستوى (0.05).

النتائج والمناقشة:

تبين من النتائج أن عينات الجبن التي كانت ملوثة بأنواع الأمينات الحيوية هي عند 8 عينات (32%) من مجموع العينات الكلية للجبن التي كانت عند 25 عينة(الجدول 1).كما تبين أن الأمين الحيوي من نوع Histamine كانت الأكثر في تكرارها عند 75% في تلويث عينات الجبن مقارنة مع الأنواع الأخرى. وقد تراوحت الأمينات الحيوية الأخرى من Tryptamine و Tyramine و Cadaverine عند 37.5 ، 25 و 25 % على التوالي.

اتفقت النتائج أعلاه مع (Gram وآخرون، 2002; Linare وآخرون ، 2010) في نسب تواجد تلك الأمينات الحيوية في عينات الجبن المفحوصة من قبلهم. يمكن أن يكون الاختلاف في تراكيز الأمينات الحيوية أعلاه إلى تركيبة بروتين الجبن من الأحماض الامينية المكونة لتلك بتراكيز مختلفة. فضلا عن الاختلاف في أنواع الأحياء المجهرية الملوثة لتلك العينات .

تم عزل الأنواع البكتيرية الملوثة لعينات أنواع الأجبان باستعمال الأوساط الزرعية الملائمة لها التي تضمنت الأوساط من الأنواع MacConkey agar, MRS agar, Nutreint agar, Cetrimide agar, Blood base agar, mannitol salt agar وكانت تلك الأوساط ملائمة لعزل الانواع الميكروبية الملوثة من السالبة والموجبة لصبغة كرام وذلك لاحتوائها على العناصر الغذائية الكافية لتنميتها (Winn، وآخرون،2006). ان تشخيص الأنواع البكتيرية تم من خلال مقارنة نتائج الاختبارات الظاهرية والمجهرية والمزرعية والكيموحيوية المتحصل عليها مع مامثبت في موسوعة بيركي ومع ما ذكره (Salminenوآخرون، 2004) . حيث تميزت 9 أنواع بكتيرية ملوثة لعينات الجبن في أنها كانت منتجة للأمينات الحيوية التي تبين بانها من الانواع Staph. epidermis, K.oxytoca ، Lb.delibricus sub. bulgaricus، Lb. fermentum ، L. monocytogenes Str. pyogenes، Staph. aureus، Leu. mesentroides، Lb. brevis. وكما مبين في جداول الاختبارات التشخيصية والكيموحيوية (2) و3) .

يوضح الجدول (4) تركيز الأمينات المنتجة مختبرياً من أنواع الميكروبات الملوثة لعينات الجبن. بينت النتائج أن جميع العزلات البكتيرية الملوثة للجبن كانت منتجة Histamine مختبرياً وقد سجلت العزلة Leu. mesentroides أعلى إنتاج في تركيز الهستامين مقارنة مع بقية العزلات وبتركيز 93,5 مايكروغرام /مل من وسط الانتاج الزرعي. ولم تنتج العزلة K. oxytoca الهستامين مختبرياً.وقد انتج بعض العزلات البكتيرية الامين الحيوي Tyramineوهي Leu. mesentroides و Lb.delibricus sub. bulgaricus و Lb.fermentum و Staph. aureus ولم تتمكن العزلات Staph. epidermis وK. oxytoca و L. monocytogenes وStr.pyogenes و Lb. brevis من إنتاجه مختبرياً .

أما لنوع الأمين الحيوي Cadaverine فقد انتجته العزلة Leu.mesentroides بأعلى تركيز تلتها العزلة Lb. fermentum واخيراً العزلة Staph .aureus أما بقية العزلات فانها لم تتمكن من انتاجه مختبرياً .

كما أُنتج الامين الحيوي Tryptamine مختبرياً حسب الترتيب في كمية الإنتاج التي كانت Lb.delibricus sub. bulgaricus وLeu. mesentroides وK. oxytoca وStaph. epidermis أما بقية العزلات المنماة فإنها لم تنتجه .

إن الاختلافات المعنوية في تراكيز وأنواع الأمينات الحيوية الملوثة لعينات الجبن المفحوصة يمكن أن يعود إلى اختلاف المعاملات التصنيعية وان الاجبان وجميع الاغذية المصنعة تصنع وفق مواصفات معملية قياسية خاصة لكل منتج باختلاف نسب البروتين (وبالتالي الاختلاف في تراكيز الاحماض الامينية المكونة والتي تمثل مولدات لهذه الامينات وحسب نوع الجبن المصنع وبالتالي كمية الامين الحيوي المتكون وكذلك أي إضافة خلال عملية التصنيع ومن البديهي ان أي إضافة إلى خط التصنيع تكون مصدر لزيادة التلوث او الحمولة الميكروبية للمنتج الغذائي المصنع .كذلك اختلاف نوعية الفلورا البكتيرية الملوثة له (Saaid وآخرون ،2009). مما تسبب في اختلاف التراكيز من تلك الأمينات الحيوية في عينات الجبن المفحوصة أو المنتج الغذائي .

أن مقارنة تراكيز الأمينات الحيوية المفحوصة في عينات الجبن في الدراسة مع التراكيز المسموح بها فإنها تشير إلى أن تلك التراكيز تعد ضمن الحدود المسموحة لكل أمين على حدة، ولكن تلوث عينات الجبن بأكثر من نوع منها يسبب في زيادة خطورتها وإمكانية إحداثها لحالات التسمم الغذائي او الحالات المرضية الناتجة عنها لاسيما عند وجود انواع الهستامين والتيرامين والكادافيرين التي تعمل تازريا مع بعضها.كما إن وجود أكثر من نوع منها يسبب في زيادة امتصاصها في الأمعاء من خلال تثبيط عمل نظام الأنزيمات الموجود في الجسم DAO وPAO وMAO وHNMT .وتختلف التشريعات القانونية للمستوى المسموح به للأمينات في دول العالم المختلفة وذلك لاختلاف العادات الغذائية ومستوى تناول جميع الأمينات ضمن الوجبة الواحدة وتناول الادوية وخاصة مثبطات MAOI (Bardocz،Shalaby;1995،1996 Bodmer; وآخرون ، 1999; FDA ،2001).

كما وجد Linare وآخرون، (2010) إن المنتج الرئيسي للأمينات الحيوية في الجبن هي البكتيريا الموجبة لصبغة كرام وأنواع بكتريا حامض اللاكتيك وأنواع العائلة المعوية Enterococaceae وأنواع جنس Streptococcus ويكون مصدرها مزارع البادئ المستعملة أو سوء الاهتمام بخطوات التصنيع والخزن والتداول الرديء(Naltingham ، 1992).

لقد اشار Nout (1994) المستوى المسموح به من الهستامين والتيرامين والكادافيرين في الاغذية يمكن ان يكون بحدود 50–100 ملغم / كغم وان الكميات اعلى من ذلك يمكن ان تسبب في حصول التسمم الحاد والتراكيز اقل منها يمكن أن يسبب اعراض مرضية مختلفة كالصداع النصفي وزيادة ضغط الدم والاحتقان وأعراض من الحساسية وغيرها (Dopkericineوآخرون ،2000 Naila; وآخرون ، 2012) .

أما فيما يخص التأثرات الصحية للامينات الحيوية على الارانب المختبرية فقد بينت النتائج في الجدول(5)والجدول (6).عدم حصول تغير معنوي ($P< 0.05$) في العدد الكلي لكريات الدم الحمر RBCوخضاب الدمHb عند التركيز (10) مايكروغرام/ مل للأرانب المختبرية المجرعة فمويا. ولكن الانخفاض في قيم المعيارين أعلاه كان معنويا في حالة التركيزين 25و50 مايكروغرام/ مل ومع كل أنواع الأمينات الأربعة مقارنة مع قيمها في حيوانات مجموعة السيطرة. كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي ارتفاع معنوي في العدد الكلي لخلايا الدم البيض وازداد الأعداد الكلية مع زيادة التراكيز من أنواع الأمينات المجرعة للحيوانات ومع جميع مجاميع الحيوانات المجرعة من أنواع الامينات الأربعة مقارنة بمجموعة حيوانات السيطرة.

كما أظهرت نتائج الحليل الاحصائي عدم حصول اختلاف معنوي في نسب الخلايا اللمفاوية لكل المجاميع المجرعة بالأمينات الحيوية الأربعة المستخدمة بالتجربة عند التركيز 10 و25مايكروغرام / مل ما عدا في حالة التجريع بالتركيز 25مايكروغرام / مل من الامين الحيوي الكادافيرين حيث سبب التجريع منه في الارتفاع المعنوي في نسبة الخلايا اللمفية.وقد سبب التركيز 50مايكروغرام / مل من جميع أنواع الأمينات في زيادة نسبتها معنويا، كما ارتفعت معنويا نسبة خلايا العدلات عند التركيز 50مايكروغرام / مل لكل المجاميع وكل أنواع الأمينات الأربعة المستخدمة بالتجربة وتباينت فعالية الأمينات الحيوية الأربعة في زيادة نسبة خلايا العدلات عند التركيزين 10 و25مايكروغرام / مل .

يمكن أن يعزى السبب في انخفاض أعداد كريات الدم الحُمر إلى حدوث فقر الدم التحللي وذلك نتيجة لانحلال كريات الدم الحمر او قد يعود الى التأثر على العوامل المتعلقة بتكوين الدم في نخاع العظم مؤدية بذلك إلى انخفاض تركيز خضاب الدم وبالتالي فإنها لم تؤدِ وظائفها في نقل المغذيات إلى أنسجة وخلايا الجسم المختلفة مما يدل على زيادة في الاستجابة المناعية، مما يتسبب في انخفاض فعاليتها وربما موتها، والتأثير في فعالية الجسم بصورة عامة(Martin وآخرون ، 2006).

كما يعتقد إن الارتفاع في أعداد خلايا الدم البيض يمكن أن يعود إلى تأثيره على نخاع العظم ومن ثمّ زيادة إنتاج هذه الخلايا في نخاع العظم، كما قد يحفز الغدد اللمفاوية المسؤولة عن نضج الخلايا اللمفاوية وتخصصها في المناعة المضادة للأمراض، ومن ثمّ زيادة أعدادها في الدم المحيطي أن هذا الارتفاع في نسبة Lymphocytes إلى Neutrophilis يدل على حصول الإجهاد المناعي في الحيوانات التي ارتفعت معها، مما يؤكد التأثيرات السلبية منها في أعضاء الجسم (Ganong، 1997).

كما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي لبعض المعايير الكيموحيوية في الجدول (6) الى حصول انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي في مصل الدم لجميع مجاميع الحيونات المجرعة بكل أنواع الأمينات ولكافة التراكيز المستخدمة ماعدا الهستامين والكادافيرين عند التركيز 10مايكروغرام / مل حيث سجلت قيم تراكيزها عند (6.40، 6.43) غم / ديسيلتر للهستامين والكادافيرين على التوالي مقارنة بمجاميع مجموعة السيطرة التي بلغت 6.42 غم / ديسيلتر . كما يلاحظ من الجدول حصول انخفاض معنوي في مستوى الالبومين ولكافة التراكيز المستخدمة وباستخدام الامينات الأربعة في التجربة ، وحصول ارتفاع معنوي في مستوى الكلوبيولين واليوريا لكافة مجاميع الحيوانات المجرعة بالكادافيرين، وبالتركيز 10مايكروغرام / مل لم تسجل فرق معنوي في مستوى اليوريا .

ويعود السبب في الإخلال بإنتاج الالبومين بسبب تأثر الكبد المصنع له او بسبب زيادة طرح الكلية للالبومين بسبب السمية حيث يَدل انخفاض بروتين الألبومين من العلامات السريرية الشديدة لإمراض الخلايا الكبدية والمتسببة عن أعاقة في تخليقه او قد يعزى النقص الحاصل إلى زيادة فقدان الألبومين نتيجة لاعتلال الكبيبات الكلوية Glumerulaopathy (Anraku وآخرون ، 2011). ، كما يعزى سبب انخفاض مستوى البروتينات الكلية في حالة تجريع الحيوانات بالأمينات الحيوية المختلفة إلى تركيبها الذي يكون له فعل في تحلل البروتين أو منع تخليقه في الجسم قد تعمل المضاعفات التي تحدث للكلى بسبب التعرض للأمينات الحيوية (Murray وآخرون ، 2000 ;Bartosikova وآخرون ، 2003) .

اتفقت النتائج مع كل من Bakry وآخرون (2010) اللذين وجدوا إن هناك زيادة في تركيز الكلوبيولين نتيجة الفشل الوظيفي للكبد، الذي يسبب انخفاض الالبومين وارتفاع بعض البروتينات مثل الفا وبيتا كلوبيولين في بلازما الدم، أن الارتفاع في تركيز اليوريا يمكن ان يكون ناتجا عن تأثير الامينات الحيوية المجرعة في إحداث اختلالات في وظيفة الكلية (Nakamura وآخرون ، 2005; Demir وآخرون ، 2009).

جدول 1. أعداد ونسب أنواع الأمينات الحيوية الملوثة لعينات الجبن.

أعداد عينات الجبن الكلية	أنواع الأمينات الحيوية المختبرة	أرقام العينات الملوثة	أعداد ونسب الأمينات الحيوية من العينات الموجبة	
			الأعداد	%
25	Histamine	2- 11- 14- 17- 21- 22	6	75
	Tyramine	3- 11	2	25
	Cadaverine	3- 8	2	25
	Tryptamine	8- 11- 17	3	37,5
	Biogenic amines			32

جدول 2. نتائج الاختبارات الكيموحيوية التشخيصية للبكتيريا المعزولة من عينات الجبن.

Coagulase	Haemolysin	Bactracin	Gelatin Liquefication	Kliglar iron agar	Urease	Simmon's citrate	Voges Proskauer	Methyl red	Indol	Motility	النمو في تراكيز الملح مختلفة		النمو في درجات حرارة مختلفة			من تكوين الكلوكوز CO_2	تكوين الامونيا من الارجنين	Catalase	Oxidase	Gram stain	نوع الاختبار / الأنواع الجرثومية
											6.5%	4%	45م°	37م°	10م°						
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	-	+	-	-	+	-	–	+	*Lb. fermentum*
ND	ND	ND	–	-	+	+	+	V	+	_	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	–	-	*Klebsiella oxytoca*
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	-	+	-	-	-	-	–	+	*Lb.delibricus sub.bulgaricus*
V	+	-	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	-	+	*Listeria monocytogenes*
V	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	+	+	-	+	-	-	–	+	*Leu. mesentroides*
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	+	+	+	-	-	+	-	–	+	*Lb. brevis*
+	+	-	ND	ND	ND	v	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	–	+	*Staph. Aureus*
V	-	-	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	-	+	*Staph. epidermis*
+	+	+	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	-	+	*Streptococcus pyogenes*

جدول 3. اختبار تخمر الكربوهيدرات للبكتيريا المعزولة من عينات الجبن

نوع الاختبار / الأنواع الجرثومية	كلوكوز	رافينوز	كلاكتوز	مالتوز	مانتول	فركتوز	زايلوز	لاكتوز	ارابينوز	رايبوز	تريهالوز	سكروز	سوربيتول	المليبايوز	رامنوز	اينوسيتول	سيليبايوز
Lactobacillus fermentum	ND	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	–	ND	ND	ND	ND	ND
Klebsiella oxytoca	+	+	+	ND	+	ND	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	-	+
Lb. delibricus sub. Bulgaricus	ND	–	+	–	+	+	–	+	–	–	–	+	ND	ND	ND	ND	ND
Listeria monocytogenes	+	ND	ND	ND	–	ND	ND	ND	+	–	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Leuconostoc mesentroides	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Lactobacillus brevis	ND	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	–	ND	ND	ND	ND	ND
Staphylococcus. aureus	+	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Staph. epidermis	+	ND	ND	ND	–	+	ND	ND	+	V	–	-	ND	ND	ND	ND	ND
Streptococcus pyogenes	+	ND	ND	ND	–	+	ND	ND	V	–	+	+	ND	ND	ND	ND	ND

جدول 4. تركيز الأمينات الحيوية المنتجة مختبرياً من أنواع المايكروبات الملوثة لعينات الجبن.

مصدر عزل الأنواع البكتيرية	نوع العزلة	تركيز الامينات الحيوية المنتجة (مايكروغرام/مل)			
		Histamine	Tyramine	Cadaverine	Tryptamine
عينات الجبن	*Staph. Epidermis*	12,5	-	-	5,9
	Klebsiella oxytoca	-			10,6
	Staphylococcus aureus	32,7	8,9	25,7	-
	Listeria monocytogenes	16,3	-	-	-
	Streptococcus pyogenes	45,6	-	-	-
	Lactobacillus fermentum	51,9	15,2	28	-
	Lb.delibricus sub. Bulgaricus	71,8	22,6	-	52,9
	Leuconostoc mesentroides	93,5	40,8	30,1	42,7
	Lactobacillus brevis	81,2	-	-	-

جدول 5. تأثير أنواع الأمينات الحيوية في صفات الدم الطبيعية لذكور الأرانب.

المعاملات	التركيز المجرع (مايكروغرام/ مل)	صفات الدم الطبيعية				
		خضاب الدم (g/dl)	الاعداد الكلية لكريات الدم الحمر $\times 10^6/mm^3$	الاعداد الكلية لخلايا الدم البيض $\times 10^6/mm^3$	% للخلايا اللمفية	% للخلايا العدلات
السيطرة	صفر	12,9a	6,3a	8,17c	63,8b	33,9a
Histamine	10	12,7a	6,3a	8,29b	64,2b	33,2a
	25	12,0b	5,6c	8,53a	65,8b	31,4b
	50	11,1c	5,1d	8,71a	67,3a	29,2b
Tyramine	10	12,9a	6,2a	8,47b	64,4b	33,0a
	25	12,2b	6,0b	8,59a	65,6b	32,5a
	50	11,2c	5,3c	8,66a	67,3a	30,0b
Cadaverine	10	12,7a	6,2a	8,32b	64,7b	32,8a
	25	12,3b	5,9b	8,48b	66,4a	31,6b
	50	11,2c	5,2d	8,60a	68,5a	29,3b
Tryptamine	10	12,8a	6,4a	8,22b	64,2b	33,1b
	25	21,1b	5,8b	8,35b	65,1b	31,6b
	50	11,4b	5,4c	8,54a	68,1a	30,2b

الأحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

جدول6. تأثير انواع الامينات الحيوية في صفات الدم الفسلجية والمناعية لذكور الارانب.

المعاملات	التركيز المجرع (مايكروغرام/ مل)	الصفات الفسلجية والمناعية لذكور الارانب(g/dl)			
		البروتين الكلي	الالبومين	الكلوبيولين	اليوريا
السيطرة	صفر	6,42a	3,13a	3,19f	**25f**
Histamine	**10**	6,40a	2,98b	3,42d	**28e**
	25	6,30d	2,62d	3,68c	**31c**
	50	6.04h	1,70f	4,34a	**34b**
Tyramine	**10**	6,37b	3,00b	3,37d	**27e**
	25	6,35c	2,81c	3,54d	**29d**
	50	6,15g	2,24e	3,91b	**31c**
Cadaverine	**10**	6,43a	3,12a	3,31e	**25f**
	25	6,39b	2,96b	3,43d	**27e**
	50	6,19f	2,31e	3,88b	**30d**
Tryptamine	**10**	6,36c	2,89c	3,47d	**29d**
	25	6,26e	2,55d	3,71c	**32c**
	50	5,94j	1.64f	4.30a	**36a**

الأحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 .

المصادر:

يوسف، محمد كمال السيد و التارقي، زينب هارون محمد (2005) . دور المواد المضادة للتغذية في تغذية الإنسان، مجلة أسيوط للدراسات البيئية، البيضاء –يناير (كانون الثاني)، العدد 28: (55) ص.

Bakry, S.; Hassan, A.M.; Shahat, M.M.A. and Abdullah, A.(2010). Effect of depo-provera on estrous cyclicity, serum proteins and lipid profile in mice. World Appl. Sci. J. 8, 1042-1049.

Bardocz, S.(1995). Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. Trends Food Sci. Technol. 6, 10, 341-346.

Bishop, ML.; Fody, EP.and Schoeff. LE, (2010), Clinical Chemistry Techniques Principles Correlation (6): 268-274.

Bodmer, S.; Imark ,C. and Kneubühl, M. (1999). Biogenic amines in foods: histamine and food processing. Inflammation Res. 48, 296-300.

Carr, F. J.; Chill, D. and Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria. A literature survey. Critical Reviews in Microbiology, 28 (4): 281-370.

Coles, E.H. (1986). Veterinary clinical pathology, 4th ed. W. B. Sounders Co.USA.

Dapkevicius, M.L.N.E.; Nout, M.J.R.; Rombouts, F.M., Houben, J.H. and Wymenga, W., (2000). Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. International Journal of Food Microbiology 57, 107– 114.

Demir ,B.C.Topkaya ,A.R.Erbay, M. andDogan D.(2009). Yucellschemia –modified albumin elevation after percutaneous coronary intervention reflects albumin concentration rather than ischemia Ann.Clin .Biochem., 46,PP.327 .

Duncan , D.(1955).Multiple range and Multiple F-Test.Biometrics.11:1-42.

FDA, (2001). Scombrotoxin (histamine) formation. Page p. 73 in Fish and fishery products hazards and controls guide. 3rd ed. Department of Health and Human Services, Publich Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. Office Seafood Washington, DC.

Ganong, W. F. (1997). Review of Medical Physiology. Asian and Schuster Company. U.S.A.

Gram,L.L.; Ravn,M.; Rasch,J.B.; Bruhn,A.B.; Christensen and M.; Givskov. (2002). Food spoilage interactions between food spoilage bacteria. International Journal of Food Microbiology 78, 79-97.

Holt, J. G.; Kring, N. R.; Sneath, P. H. A.; Staley, J. J. and Williams, S. T . (1994). Group 17 gram-positive cocci. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. W. R. and Forlifer, L. E. pp. 527-543.

Hwang .D.F., Chang . S.H.,Shiau , C.Y.,& Cheng ,C.C .(1995) . Biogenic amines in the fish of Sailfish (*Istiophorusplatypterus*) responsible for scombriod poisoning .*Journal of Food Science* ,60,926-928.

J.H., Wymenga, W., (2000). Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. International Journal of Food Microbiology 57, 107– 114.

Linares DM, Cruz Martı´n M, Ladero V, Alvarez MA, Ferna´ndezM(2010). Biogenic amines in dairy products. Critical Rev Food Sci .Nutr. (in press). has a global translational effect during acid adaptation in Salmonella entericaserovar typhimurium. J Bacteriol 189, 2417–2425.

Naila,A.; Flint,S.; Fletcher,G.; Bremer,Ph.; Meerdink,G.(2012). Histamine Degradation by Diamine Oxidase, Lactobacillus and Vergi bacillus halodoniticans donitrificans Nai18, http://dx.doi.org/10.4172/2157-7110.1000158.

Nakamura M Minmi K,Uezono Y, (2005): The effect of the tra-madol metabolic O- desmethyl on muscarinic reseptor-induced res-ponse in xenopus oocytes expr-essing coined M1 or M3 recptors or M5recptors.Anesth Analg; 101: 180-186.

National Research Council Recommended (NAS-NRC) (2002) "Dietary Allowance "15th ed., Washington D.C., National Academy Press.

Nout, M.J.R. (1994). Fermented foods and food safety. Food Res. Int.,27:291-296.

OZUGUL, F.; TAYLOR, K.D.; QUANTICK, P. Y OZAGUL, Y. (2002). Biogenic amines formation in Atlantic herring (Clupeaharengus) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. International Journal of Food Science and Technology, 37: 515-522.

Roberts, D. and Greenwood, M. Practical Food Microbiology, Ed, 3ed, Blackwell Publishing Ltd, (2003), 296.

Saaid, M.; Saad, B.; Hashim, N.H.; Salhin, A. & Ali, A.M. (2009). Determination of biogenic amines in selected Malaysian food. *Food Chemistry*, Vol. 113, No. 4, pp. 1356-1362

Salminen ,S.; Wright .A.; Ouwehand ,A .(2004) " Lactic acid b-acteria , microbiological and functional aspect " third ed ., Marcel Dekker ,Inc .,New York.

SAS (2001). SAS User's guide: Statistical system, Inc. Cary, NC. USA.

Shalaby A.R., (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Int. 29 (7), 675-690.

Spano, G., Russo, P., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Alexandre, H. and Grandvalet, C. (2010). Biogenic amines in fermented foods. European Journal of Clinical Nutrition 64(S3): S95-S100.

Stadnik J, Dolatowski ZJ (2010) Biogenic amines in meat and fermented meat products. ActaSci Pol Technol Aliment 3:251-263.

Tietz, Y., (2005), Clinical Biochemistry, 6th ed., McGraw –Hill, New York. 825.

Winn, J.W.; Allen,S.; Janda,W.; Koneman,E.; Procop,G.; Schreck-enberger, P.; and Woods,G.(2006). Konemans Color Atlas andTextbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A.

Young, D. S., (1995), Effect of drugs on clinical laboratory tesis, 4thed.