Archive of SID

نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۸۷، تابستان ۱۳۸۹

مطالعه وضعیت آلودگی آفلاتوکسین در شیر و خوراک دام گاوداری‌های استان کرمانشاه با استفاده از روش الایزا

• نگین جمالی امام قیس
دانشجوی علوم دامی دانشگاه رازی-کرمانشاه (نویسنده مسئول)
• محمد مهدی معینی
استادیار علوم دامی دانشگاه رازی-کرمانشاه
تاریخ دریافت: آبان ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: آذر ماه ۱۳۸۸
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۲۶۱-۲۸۲۰۱۹۰
Email: avesta_shabahang@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه که به منظور تعیین مقدار آلودگی خوراک گاوداری ها و شیر تولیدی به سم آفلاتوکسین انجام شد، از علف خشک یونجه و ذرت سیلو شده و شیر تولیدی ۹ واحد گاوداری صنعتی و نیمه صنعتی فعال در استان کرمانشاه نمونه برداری صورت گرفت. جهت اندازه گیری فراسنجه های بیوشیمیایی و هماتولوژیکی، از ۱۰ درصد گاوهای شیرده در هر گاوداری خون گیری به عمل آمد. مقدار آفلاتوکسین در نمونه‌های خوراک و شیر با استفاده از روش الایزا[1] اندازه گیری شد. میانگین آلودگی آفلاتوکسین در نمونه‌های علف خشک یونجه گاوداری‌های کوچک، متوسط و بزرگ به ترتیب ۱۲/۴، ۱۰/۳ و ۱۱/۲ میکروگرم در کیلوگرم بود و اثر اندازه گاوداری بر مقدار آفلاتوکسین یونجه معنی دار نبود (P>۰/۰۵). اما اثر زمان نمونه برداری بر مقدار آلودگی آفلاتوکسین نمونه های یونجه معنی دار شد (P<۰/۰۱). میانگین آلودگی در نمونه‌های شیر گاوداری ها به ترتیب ۳۷/۸، ۲۹/۷ و ۳۴/۹ نانوگرم در لیتر بود. در این مطالعه آلودگی آفلاتوکسین در ۳۳ درصد از نمونه‌های شیر گاوداری ها در کرمانشاه بیشتر یا در محدوده حد مجاز و در ۶۷ درصد از نمونه های شیر کمتر از حد مجاز اتحادیه اروپا (۵۰ نانوگرم در لیتر) بود..

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، شیرگاو، یونجه، ذرت سیلو شده ، الایزا.

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 87 pp: 25-31

Aflatoxin contamination occurrence in milk and feed in Kermanshah dairy farms by ElISA technique

By: N.Jamali Emam Ghedis. Student of Animal Sciences. Razi University Kermanshah (Corresponding Author; Tel: +982612820190), Moeini M.M. Assistant Professor of Animal Sciences of Razi University, Kermanshah.

The aim of this study was to evaluate aflatoxin contamination in feed and milk in dairy farm in Kermanshah. Alfalfa, corn silage and milk samples from 9 industrial and semi industrial dairy farms were collected during 2 months. Blood samples were collected via tail venipuncture from 10 % of dairy cows in each farm for biochemical and hematological parameters. Aflatoxin contamination in feeds and milk samples was detected by ELISA technique. Aflatoxin contamination in alfalfa samples of small, medium and big dairy farm were: 12.4, 10.3 and 11.2microgram per kilogram respectively. There was no significant difference between contaminated alfalfa samples in dairy farms (P>0/05), However a significant difference was observed by time in contaminated alfalfa samples (p<0.01). The mean aflatoxin M1 in milk samples were 37.8, 29.7 and 34.9 nanogram/liter respectively. In this study the aflatoxin concentrations (AFM1) in 33 % of the milk samples of dairy farm in Kermanshah were greater than the maximum tolerance limit or about of European regulation (50 ppt) and in 67 % of the milk samples were below the limit of EU regulation.

Key words: Aflatoxin, Milk, Alfalfa, Corn silage, ELISA

مقدمه

از میان عوامل متعددی که سبب فساد مواد غذایی می‌شوند، سموم قارچی از اهمیت زیادی برخوردارند. از بین این سموم آفلاتوکسین‌ها در درجه اول اهمیت هستند. آفلاتوکسین ها، مایکوتوکسین هایی هستند که به وسیله چندین گونه از قارچ های آسپرژیلوس تولید می شوند. هنگامی که مواد خوراکی آلوده به آفلاتوکسین B۱ توسط گاوهای شیری مصرف می شود در کبد هیدروکسیله شده و به آفلاتوکسین M۱ تبدیل میشود که در شیر و ادرار حیوان قابل اندازه گیری است. آفلاتوکسین B۱ به عنوان گروه اول ترکیبات سرطان زا و آفلاتوکسین M۱ به عنوان گروه دوم ترکیبات سرطان زا برای انسان و حیوان معرفی شده است (۹). وجود آفلاتوکسین در خوراک منجر به بروز علائمی از قبیل آسیب کبدی، سیروز کبدی و ایجاد تومور، جهش زایی و ناقص الخلقه بودن در حیوانات می‌شود. همچنین عوارضی از قبیل تضعیف سیستم ایمنی، کاهش رشد و کاهش مصرف خوراک، کاهش تولید شیر و اختلالاتی در تولید مثل گاوهای شیرده از قبیل سقط جنین را به دنبال دارد (۱۴). در کنار صدمات جبران ناپذیر به صنعت دامپروری، ورود آفلاتوکسین M۱ از طریق شیر به صنایع غذایی انسان، سلامت انسان را نیز با خطر جدی مواجه می‌کند. به منظور کاهش مخاطرات ناشی از مصرف خوراک آلوده به آفلاتوکسین اتحادیه اروپا مقدار مجاز آفلاتوکسین M۱ در شیر را ۰/۰۵ میکروگرم در کیلوگرم تعیین کرده است (۷). در ایالات متحده تا مقدار ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین مجاز است؛ اگرچه محدودیت‌های اعمال شده بسته به درجه توسعه اقتصادی و موقعیت جغرافیایی متفاوت می‌باشد. بهترین راه پیشگیری از آلوده شدن خوراک انسان به آفلاتوکسین M۱ ، کنترل خوراک مورد استفاده دام ها می باشد. در زمینه آلودگی محصولات کشاورزی وشیر به آفلاتوکسین در ایران پژوهش هایی انجام شده است(۱، ۲، ۵). هدف از این مطالعه بررسی علوفه مورد استفاده و شیر تولیدی تعدادی از گاوداری‌های استان کرمانشاه از نظر آلودگی به آفلاتوکسین بود.

مواد و روش‌ها

گاوداری‌های استان کرمانشاه براساس تعداد گاوهای شیرده و شیر روزانه تحویلی به کارخانه پاستوریزه به سه دسته گاوداری‌های کوچک، متوسط و بزرگ تقسیم شد. از هر دسته تولیدی ۳ گاوداری به طور کاملاً تصادفی انتخاب و از طریق تکمیل پرسش نامه از ترکیب گله، نحوه مدیریت و روش تهیه و نگه داری مواد خوراکی گاوداری‌ها اطلاع حاصل شد. در طول مدت دو ماه از علف خشک یونجه و ذرت سیلو شده که بخش عمده خوراک گاوها را تشکیل می‌دادند، نمونه برداری شد. پس از باز کردن هر بسته یونجه از سه ناحیه ابتدا، وسط و انتهای بسته نمونه برداری شد و از قسمت های سطحی، میانی و انتهایی سیلوهای ذرت نیز نمونه برداشت شد(۴، ۱۹). نمونه‌ها خشک و به وسیله آسیاب خرد شد و تا زمان اندازه گیری مقادیر آفلاتوکسین در جای خنک و خشک قرار گرفت. مطابق با دستورالعمل کیت الایزای آفلاتوکسین، نمونه‌های آسیاب شده علف خشک یونجه و ذرت سیلو شده از الک ۲۰ مش عبور داده شد به طوریکه ۷۰ درصد نمونه‌ها از الک عبور کرد. عصاره گیری نمونه‌های الک شده با متانول ۷۰ درصد و به تدریج انجام شد. به طور هم زمان از شیر تولیدی گاوداری‌ها نمونه برداری صورت گرفت.برای جدا کردن چربی شیر قدرت ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد(۶، ۸). نمونه ها از سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰ درج سلسیوس نمونه های شیر تا زمان اندازه گیری مقدار آفلاتوکسین با روش الایزا در فریزر در دمای ۱۸- درجه سلسیوس قرار گرفت. مقدار آفلاتوکسین نمونه‌ها با استفاده از کیت رومر تهیه شده از شرکت فراگیر دانش و با استفاده از الایزا ریدر با فیلتر جذب ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید (۶، ۸). از ۱۰ درصد گاوهای شیرده هر گاوداری خونگیری شد. خون گیری با استفاده از ونوجکت و از ورید دمی به میزان ۱۰ میلی لیتر انجام شد. پنج میلی لیتر از نمونه های خون به لوله حاوی ماده ضد انعقاد سدیم سیترات انتقال داده شد و برای اندازه گیری فراسنجه های هماتولوژیکی در یخچال نگهداری شد. از لوله های آزمایشی حاوی خون بدون ماده

www.SID.ir

Archive of SID

ضد انعقاد جهت بررسی فراسنجه های بیوشیمیایی استفاده شد. فراسنجه های بیوشیمیایی پروتئین و آلبومین با روش بیورت و بروموکروزول گرین اندازه گرفته شدند(۱۱). گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از دستگاه شمارنده سلولی سیسمکس[۲] ساخت ژاپن تعیین گردید (۱۳)تعداد گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از دستگاه شمارنده سلولی تعیین گردید. مقدار هموگلوبین خون براساس گرم در دسی لیتر اندازه گیری شد (۱۳). تجزیه آماری داده ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل ۲×۳ (۳ دسته گاوداری × دو زمان نمونه گیری) با طرح پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت. همبستگی بین مقدار آفلاتوکسین و مقادیر شیر تولیدی تعیین گردید و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

میانگین مقدار آفلاتوکسین B در نمونه‌های علف خشک یونجه در گاوداری‌های کوچک، متوسط و بزرگ به ترتیب ۱۲/۴، ۱۰/۳ و ۱۱/۲ و در دامنه ای بین ۸/۱ تا ۱۷/۴ میکروگرم در کیلوگرم بود (جدول ۱).
اختلاف میانگین مقادیر آفلاتوکسین در نمونه‌های علف خشک یونجه درگاوداری‌های مورد مطالعه معنی دار نبود ($P>0/05$). اثر زمان نمونه برداری بر میانگین مقدار آلودگی آفلاتوکسین نمونه های علف خشک یونجه معنی دار بود ($P<0/01$). اثرات متقابل نوع گاوداری × زمان نشان داد که آلودگی آفلاتوکسین نمونه‌های علف خشک یونجه در هر سه دسته گاوداری در بهمن ماه بیشتر از دی ماه بود ($P<0/05$).
میانگین مقدار آفلاتوکسین در نمونه‌های ذرت سیلو شده در گاوداری‌های کوچک، متوسط و بزرگ به ترتیب ۲۳/۹، ۲۰/۸ و ۲۱/۸ میکروگرم در کیلوگرم اندازه گیری شد. میانگین آلودگی آفلاتوکسین در هر سه دسته گاوداری در نمونه‌های ذرت سیلو شده از یونجه بیشتر بود. آلودگی آفلاتوکسین نمونه های یونجه و ذرت سیلو شده گاوداری های کوچک بیشترین مقدار و گاوداری های متوسط کمترین مقدار بود. مهم ترین علت تغییرات مقادیر آفلاتوکسین در نمونه ها نحوه مدیریت گاوداری‌ها به ویژه روش ذخیره و نگه داری علوفه بود. گاوداری‌های کوچک اغلب تحت شرایط غیربهداشتی اداره می‌شدند که این امر خود گسترش کپک زدگی و تولید سم در خوراک دام‌ها را در اثر رطوبت و بارندگی فصل زمستان تسریع می‌نماید. برخی گاوداری‌های بزرگ نیز به دلیل تعداد داشتن زیاد گاو و نیاز به ذخیره مقادیر زیادی از مواد خوراکی اغلب با مشکلات عدم کفایت فضای انبار ذخیره و باران خوردگی و کپک زدگی علوفه‌ها روبرو بودند. چون در بیشتر گاوداری ها شرایط نگهداری مواد خوراکی مناسب نیست لذا این قارچ که به صورت ساپروفیت بر روی برگ، ساقه و دانه ذرت در مرحله برداشت وجود دارد، در شرایط هوازی رشد نموده و گسترش می یابد. پوشانیدن سطح سیلو پس از هر بار برداشت می تواند نقش مهمی در جلوگیری از گسترش قارچ داشته باشد. مقادیر آفلاتوکسین نمونه‌های شیر در جدول ۲ آورده شده است. میانگین آفلاتوکسین نمونه‌های شیر گاوداری‌های کوچک، متوسط و بزرگ به ترتیب ۳۸/۰، ۲۹/۷ و ۳۴/۰ نانوگرم در لیتر بود. اثر نوع گاوداری و زمان در مقدار آفلاتوکسین نمونه‌های شیر معنی دار نبود ($P>0/05$).

به نظر می رسد علت بالا بودن آلودگی آفلاتوکسین و تغییرات زیاد مقادیر آلودگی در شیر گاوداری‌ها، تغذیه گاوهای شیرده با برخی خوراک‌های مستعد به آلودگی آفلاتوکسین نظیر آرد گندم و نان خشک کپک زده بود. نتایج مطالعه وضعیت آلودگی آفلاتوکسین در برخی شهرهای دیگر در مقایسه با کرمانشاه در جدول ۳ نشان داده شده است. آلودگی شیر خام و پاستوریزه به افلاتوکسین(بیش از حد مجاز) در استان تهران ۸۲/۲ درصد گزارش شده است.
با توجه به گزارش حسنی نیا (۱۳۸۵) و نتایج مطالعه حاضر، گاوداریهای کرمانشاه در مقایسه با سایر مطالعات انجام شده تهران (۱۹۹۸ و ۲۰۰۶)، مشهد (۱۳۸۴) و سراب (۲۰۰۵)، از نظر آلودگی به آفلاتوکسین در وضعیت مطلوب تری قرار دارد(۱، ۲، ۳، ۵، ۱۲، ۱۶) .
نتایج مقایسه میانگین فراسنجه های بیوشیمیایی و هماتولوژیکی نمونه های خون در جدول ۴ آورده شده است. میانگین مقدار پروتئین، آلبومین و هموگلوبین خون در گاوداری‌های کوچک، متوسط و بزرگ به ترتیب ۸/۰، ۴/۰، ۷/۳ و ۷/۷، ۴/۰، ۷/۴ و ۷/۷، ۴/۰، ۷/۶ گرم در دسی لیتر بود. اختلاف معنی داری بین فراسنجه های بیوشیمیایی و هماتولوژیکی مشاهده نشد.
با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۴ اختلاف معنی‌داری در میانگین مقادیر پروتئین تام، آلبومین و هموگلوبین در گاوداری‌های کوچک، متوسط و بزرگ مشاهده نشد ($P>0/05$). یکی از اثرات بیولوژیک آفلاتوکسین، اثر بر پروتئین‌های سرم می‌باشد. آسیب رسانی سموم قارچی به ویژه آفلاتوکسین به تکثیر دائمی و تمایز سلول‌هایی که در فعالیت سیستم ایمنی با واسطه سلول شرکت می‌کنند، موجب نقص عملکرد سیستم ایمنی می‌شود (۱۴). از آن جا که پاسخ ایمنی به سنتز ماکرومولکول‌ها و فعال کننده‌های سلولی وابسته است، سموم قارچی سبب تضعیف سیستم ایمنی شوند. دریک مطالعه برای یافتن اثر مقادیر کم آفلاتوکسین بر فراسنجه های خونی گوسفندان از جیره‌های حاوی ۱۳۸ و ۵۲ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین به مدت ۱۵۰ روز استفاده شد و اختلاف معنی‌داری در مقادیر فراسنجه های خونی هموگلوبین، آلبومین، پروتئین تام، گلوبولین، تری گلیسرید و اوره خون گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر متفاوت آفلاتوکسین مشاهده نشد (۱۰، ۱۷).

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

در مطالعه حاضر ۶۷ درصد نمونه‌های شیر حاصل از گاوداری‌های کرمانشاه کمتر از حد مجاز (۵۰ نانوگرم در لیتر) به آفلاتوکسین آلوده بودند. با توجه به میزان آفلاتوکسین در شیر گاوداری های ایران و میزان آفلاتوکسین حاصل در این بررسی؛ نشان می دهد که در برخی موارد مقدار آفلاتوکسین در شیر مصرفی بیش از حد مجاز می باشد. همبستگی بین مقدار آفلاتوکسین موجود در خوراک مورد استفاده در گاوداری‌ها و شیر تولیدی ۰/۹۱ براورد گردید. این مقدار همبستگی نشان می‌دهد که هر چه مقدار آلودگی آفلاتوکسین خوراک دام‌ها بیشتر باشد سطح آفلاتوکسین در شیر آن‌ها افزایش می‌یابد و می‌تواند تهدیدی برای سلامت عمومی مصرف کنندگان به ویژه کودکان و افراد مسن باشد. موثرترین روش جلوگیری از آلودگی شیر به افلاتوکسین M۱

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- میانگین مقدار آفلاتوکسین در نمونه های یونجه و ذرت سیلو شده گاوداری های کرمانشاه (میکروگرم در کیلوگرم)

عامل اصلی	مقدار آفلاتوکسین ذرت سیلو شده	مقدار آفلاتوکسین یونجه
گاوداری کوچک	۲۳/۹	۱۲/۴
متوسط	۲۰/۸	۱۰/۳
بزرگ	۲۱/۷	۱۱/۲
اشتباه استاندارد	۲/۷	۰/۷
زمان		
دی	۲۳/۹	۹/۳ b
بهمن	۲۰/۴	۱۳/۲ a
اشتباه استاندارد	۲/۲	۰/۶
اثر متقابل (نوع گاوداری ×زمان)		
کوچک× دی	۲۶/۱	۹/۱ b
متوسط× دی	۲۳/۹	۸/۶ b
بزرگ× دی	۲۱/۷	۱۰/۴ b
کوچک× بهمن	۲۱/۶	۱۵/۷ a
متوسط× بهمن	۱۷/۷	۱۲/۰ a
بزرگ× بهمن	۲۳/۸	۱۲/۰ a
اشتباه استاندارد	۳/۲	۰/۸

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

جدول ۲- میانگین مقدار آفلاتوکسین نمونه های شیر گاوداری های کرمانشاه بر حسب نانوگرم در لیتر

عامل اصلی	میانگین مقدار آفلاتوکسین شیر
نوع گاوداری	
کوچک	۳۷/۸
متوسط	۲۹/۷
بزرگ	۳۴/۹
اشتباه استاندارد	۱۵/۱
زمان	
دی	۳۴/۹
بهمن	۳۳/۳
اشتباه استاندارد	۱۲/۳
اثر متقابل (نوع گاوداری × زمان)	
کوچک× دی	۵۱/۳
متوسط× دی	۱۸/۸
بزرگ× دی	۳۴/۷
کوچک× بهمن	۲۴/۳
متوسط× بهمن	۴۰/۵
بزرگ× بهمن	۳۵/۰
اشتباه استاندارد	۱۷/۴

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- درصد نمونه های آلوده به مقادیر بیش از حد مجاز آفلاتوکسین در برخی شهرها

درصد نمونه های آلوده	تعداد نمونه	مکان
۱۷/۸	۶۲۴	شیراز (۲۰۰۶)
۸۲/۲	۷۳	تهران (۱۹۹۸)
۷۸	۱۲۸	تهران (۲۰۰۶)
۴۰	۱۱۱	سراب (۲۰۰۵)
۶۰-۸۰	-	مشهد (۱۳۸۴)
۲۰/۲۲	۱۸	کرمانشاه (۱۳۸۵)

کاهش افلاتوکسین B۱ در مواد غذایی و مکمل های مورد استفاده برای گاوهای شـیری است لذا توصیه میشود خوراک موجود در گاوداری‌ها از نظر مقدار آلودگی به آفلاتوکسین مورد ارزیابی دائمی قرار گیرد. ذخیره و برداشـت علوفه و سایر مواد خوراکی به صورت فنی و بهداشتی انجام گیرد و خوراک‌های مسـتعد به کپک‌زدگی به ویژه آرد و نان خشـک و تفاله چغندرقند باران خـورده و علوفه‌های مرطوب و کپک زده از جیره غذایی گاوهای شیرده حذف شوند.

پاورقی ها

1- ELISA
2- Sysmex

منابع مورد استفاده

۱- حسـنی نیا، د.، (۱۳۸۵) بررسـی میزان آفلاتوکسـین در شیر گاوداری‌ها و کارخانجات شیر پاسـتوریزه کرمانشـاه. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحه ۴۳.

۲- گیتی، ک.، بکایی، س. و خراسانی، ا.، (۱۳۷۷) مطالعه میزان آلودگی شیرهای تحویلی به کارخانجات شـیر پاستوریزه تهران به آفلاتوکسین M۱ با استفاده از روش الایزا. مجله بهداشت ایران شماره ۴۲ -۴۰، صفحات ۱۶۵ - ۱۶۳.

۳- محسـن زاده، م.، (۱۳۸۴) اهمیت کنترل و بررسـی آفلاتوکسین در شیر و مواد لبنی. مجموعه مقالات برگزیده اولین جشـنواره شیر منطقه شمال کشور. دانشگاه مازندران –ساری، صفحه ۱۰۶

۴- نوریـان، ا.، معینی، م. م و بحیرائـی، ا.، (۱۳۸۶) اصول تجزیه خوراک دام و طیور. دانشگاه رازی، صفحه ۲۰۱.

5- Alborzi, S. , Pourabbas, B. and Astaneh. B. (2006) Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Shiraz (South of Iran). *Food control* 17: 582 – 584.

6- Anonymous. (1999) *Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M1 in milk*. Art NO: R1101, R-Biopharm Gmbh , Darmstadt, Germany.

7- EEC. (1998) Regulation No. 1525 / 98 / EC of 16 July 1998. Laying down regulation, the sampling methods of analysis for the official control of the levels for certain contaminants in food staffs. Official *Journal of the European communities*. L 201. 43 – 46, 39 – 101.

8- Fremy, J. M. (1989) *Immunochemical methods of analysis for aflatoxin M1*. Mycotoxin in dairy production. Publ. By Elsevir London, lsbn. 1-85166-369-x , PP: 109-120.

9- IARC, *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans – some naturally occurring substances*. Food items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. V 65: 445 – 466.

10- Gowda, N. K. S., Suganthi, R. U. malathi, V. and Raghvend.A. (2006) Efficacy of heat treatment and sun drying of a toxin – contaminated feed for reducing the harmful biological effects in sheep. *Animal feed science and technology*. ANIFEE – TT 594، pp: 9.

11- Jain, N. C. (1986) *Schalm veterinary haematology*. 4 thd.

www.SID.ir

Archive of SID

Lea and Febieger. Publication Philadelphia. PP: 178-207.

12- Kamkar, A. (2005) A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food control* 16, 593 – 599.

13- Manolescu, N., Barza, H. Caprarin, A. and Sinchievici. B. (1978) *Methods of hematology in animals*. 2 nd ed. Ed. Bucharest, Romania.

14- Oswald, P. I., Bouhet, S. Marin, D. E. Pinton, P. and Taranul. I. *Mycotoxin effects on the pig immune system.* Pig industry. Engormix. com.

15- Osweiler, G.D., (2005) *Aflatoxin and animal health. Veterinary diagnostic laboratory*. Iowa state university. 2005. occurrence of aflatoxin Iowa and nearby states. Iowa grain. org.

16- Oveisi, R. M. ,Jannat, B. Sadeghi,N. and Hajimahmoodi. M. (2006) Present of aflatoxin M1 in milk and infant milk products in Tehran, Iran. *Food control, doi*: 10. 1016.

17- Rain bow, L. , Maxwell, S. M. and Hendrichse. M. (1994) Ultra structural changes in murine lymphosytes in cluced by aflatoxin B1. *Mycopathologia*. 125: 33 – 39.

18- Silvotti, L. , Dilecee, R. Bonomi, A. Borghetti, P. Perillo, A. Piedimonte, G. Corrad, A. and Cabass. E. (1995) Invitro responses of macrophages and lymphocyte of pigs feed with aflatoxin B1 and G1. *Journal of veterinary pathology.* 1: 117 –121.

19- www.nti.ir . The sampling methods of analysis for mycotoxins in foodstaffs.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- مقادیر میانگین پروتئین، آلبومین و هموگلوبین(گرم در دسی لیتر)، تعداد گلبول های سفید و قرمز در میکرولیتر و درصد لنفوسیت، نوتروفیل و هماتوکریت خون در گاوداری های کرمانشاه

درصد نمونه های آلوده	پروتئین	آلبومین	گلبول سفید	نوتروفیل	لنفوسیت	گلبول قرمز	هماتوکریت
نوع گاوداری							
کوچک	۸/۰	۴/۰	۵/۷	۳۸/۰	۵۸/۷	۵/۳	۷/۳
متوسط	۷/۷	۴/۰	۵/۸	۴۰/۵	۵۴/۶	۵/۵	۷/۴
بزرگ	۷/۷	۴/۰	۵/۹	۴۱/۲	۵۴/۷	۵/۴	۷/۶
اشتباه استاندارد	۰/۷	۰/۱	۰/۵	۲/۹	۳/۱	۰/۱	۰/۲
زمان							
دی	۷/۹	۴/۰	۵/۸	۴۰/۹	۵۴/۹	۵/۳	۷/۳۲۷
بهمن	۷/۷	۴/۰	۵/۸	۳۸/۹	۵۷/۱	۵/۵	۷/۵۹۱
اشتباه استاندارد	۰/۱	۰/۱	۰/۴	۲/۳	۲/۵	۰/۱	۰/۲
اثر متقابل (گاوداری ×زمان)							
کوچک× دی	۸/۱	۴/۱	۵/۵	۳۸/۹	۵۷/۷	۵/۱	۷/۳
متوسط× دی	۷/۹	۳/۹	۵/۹	۳۸/۵	۵۶/۷	۵/۳	۷/۲
بزرگ× دی	۷/۶	۴/۰	۶/۱	۴۵/۲	۵۰/۳	۵/۳	۷/۳
کوچک× بهمن	۷/۸	۴/۰	۵/۹	۳۷/۰	۵۹/۸	۵/۴	۷/۳
متوسط× بهمن	۷/۶	۴/۱	۵/۸	۴۲/۵	۵۲/۸	۵/۷	۷/۵
بزرگ× بهمن	۷/۸	۴/۰	۵/۶	۳۷/۳	۵۸/۹	۵/۵	۷/۸
اشتباه استاندارد	۰/۲	۰/۱	۰/۷	۴/۱	۴/۴	۰/۲	۰/۳

www.SID.ir