

## اثر استفاده از بنتونیت سدیم و دیواره سلولی مخمر بر میزان تولید پادتن در پاسخ به واکسیناسیون علیه بیماری بورس عفونی در جوجه های گوشتی مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس تجربی

• حسن قهری (نویسنده مسئول)

استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه

• مهدی عبدالله فام

دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه

• سید جواد کوه کمری

دکترای دامپزشکی و کارشناس مرکز تحقیقات مرغ بومی جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۹۰

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۱۸۷۱۵۸۸

Email: ghahri\_hasan@yahoo.com

### چکیده

آفلاتوکسین اثرات مضر بر عملکرد و ایمنی در برابر بیماری ها دارد که بر این اساس مواد مختلف جاذب سموم قارچی جهت کاهش اثرات سوء آفلاتوکسین استفاده می گردد. در این مطالعه توانایی دیواره سلولی مخمر و بنتونیت سدیم به عنوان مواد جاذب سموم قارچی در کاهش مسمومیت با آفلاتوکسین در جوجه های گوشتی تغذیه شده از جیره های حاوی ذرت کپک زده و حاوی آفلاتوکسین بررسی گردید. ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی از سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ گروه آزمایشی و ۳ تکرار و جمعاً در ۳۰ واحد آزمایشی از نظر تولید پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل: جیره شاهد فاقد آفلاتوکسین، جیره شاهد حاوی آفلاتوکسین، جیره های حاوی آفلاتوکسین و دو سطح مختلف دیواره سلولی مخمر (۰/۵ و ۱ درصد) و دو سطح بنتونیت سدیم (۰/۵ و ۱ درصد) و جیره حاوی آفلاتوکسین با سطوح ترکیبی این دو ماده بود. آزمایش از سن ۸ روزگی شروع و در سنین ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی با اخذ نمونه خونی، میزان پادتن به روش الایزا اندازه گیری گردید. دیواره سلولی مخمر در بهبود میزان تیتر پادتن، بهتر از بنتونیت سدیم عمل کرده بود. ترکیب این مواد (۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر و ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم) در جیره های حاوی آفلاتوکسین سبب کاهش معنی داری در تاثیر آفلاتوکسین بر تولید پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی شده است، بطوریکه جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم و ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر، یا جیره حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم و ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر در مقایسه با تیمارهای دیگر تیتر پادتن بالایی داشتند.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، بنتونیت سدیم، دیواره سلولی مخمر، پادتن، بیماری بورس عفونی، واکسن گامبورو

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 96 pp: 7-13

### Efficacy of sodium bentonite and esterified glucomannan on antibody titer in response to infection bursal disease vaccine during experimental Aflatoxicosis in broiler

By: Ghahri, H, Assistant Professor of Islamic Azad University Urmieh Branch, (Corresponding Author; Tel: +989141871588) Abdollahfam M. Graduated of Veterinary Medicine, Islamic Azad University Urmieh Branch, Koohkamari S.J. Expert of Poultry Research Center of West Azarbayjan.

Studies have shown that aflatoxin is immunosuppressive and its ingestion in feed has resulted in decreased immunity in vaccinated birds. Therefore, the purpose of the present study was to determine the efficacy of sodium bentonite (SB) and esterified glucomannan (E-GM) of yeast cell wall, in counteracting the toxic effects of aflatoxin (AF) on immunization against Infectious Bursal Disease (IBD) in broiler feed with naturally contaminated diet with aflatoxin. Seven-day-old chicks were randomly assigned to 10 dietary treatments in three replicates of 8 chicks. Treatments were: 1) control; 2) naturally contaminated diet; 3, and 4) naturally contaminated diet (NCD) supplemented with 0.5 and 1.0% SB respectively; 5 and 6) (NCD) with 0.05 and 0.1% E-GM respectively; 7) NCD supplemented with 0.5% SB and 0.05 % E-GM, 8) NCD supplemented with 0.5% SB and 1.0 % E-GM, 9) NCD supplemented with 1.0% SB and 0.05 E-GM, and 10) NCD supplemented with 1.0% SB and 0.1% E-GM. blood samples were taken in 21, 28, 35 and 42 day of age and the titers of antibody against IBD were measured by ELISA test. The addition of E-GM and SB to the aflatoxin-containing diet ameliorated the adverse effects of aflatoxin on IBD antibody titers, but E-GM supplementation to the contaminated diet with aflatoxin proved to be much more effective in the amelioration of the adverse effect of aflatoxin on humoral immunity against IBD. These results clearly demonstrated that simultaneous addition of E-GM and SB (Treatment 8) to the AF-containing diet provided significant reduction on the immunotoxic effects of AF.

**Keywords:** Aflatoxin, Sodium bentonite, Yeast cell wall, Antibody, Infectious Bursal Disease, Gumboro vaccin

#### مقدمه

آلودگی جیره طیور به سموم مخرب قارچی موجب بروز صدمات اقتصادی در صنعت پرورش طیور می گردد. از مهم ترین آنها می توان به سموم حاصله از قارچ های *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus* اشاره نمود. سموم قارچی در پنج دسته اصلی طبقه بندی می شوند که سه دسته از آنها برای ایمنی طیور مضر است. این سه دسته شامل آفلاتوکسین، اکراتوکسین و تریکوتسین است که آفلاتوکسین ها (AF) مخرب ترین آنها بوده و بیش از ۱۸ گونه از آنها شناخته شده است که در بین اینها چهار دسته G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> به عنوان آلوده کننده های طبیعی مواد خوراکی تشخیص داده شده اند و AFB<sub>1</sub> (Aflatoxin B<sub>1</sub>) سمی ترین ترکیب این دسته می باشد. وجود این ترکیبات در جیره سبب بروز بیماری آفلاتوکسیکوزیس می گردد که باعث یکسری علائم بالینی و کالبد گشایی در طیور می گردد. روش های سم زدایی بر تجزیه، نابود سازی، غیرفعال سازی و یا حذف آفلاتوکسین به وسیله روش های فیزیکی، شیمیایی و زیستی متمرکز شده است. یکی از این روش ها استفاده از مواد جاذب غیر تغذیه ای در جیره، از قبیل بنتونیت سدیم، دیواره سلولی مخمر و دیگر مواد جهت پیوند با آفلاتوکسین و کاهش جذب آن از دستگاه گوارش می باشد. در سال های ۱۹۹۸، ۲۰۰۱ و ۲۰۰۴ نشان داده شد که از بین مواد مختلف جاذب سموم قارچی، بنتونیت سدیم دارای اثرات مفیدی روی تغییرات بیوشیمیایی سرم خون، وزن بدن، مصرف خوراک و وزن نسبی اندام های

بدن است و با افزودن ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم به جیره های حاوی AFB<sub>1</sub> اثرات مضر این سم تخفیف می یابد. (۵، ۷، ۱۳، ۱۵) پژوهشگران همچنین نشان دادند که دیواره سلولی مخمر باعث بهبود وزن بدن، مصرف خوراک، میزان پروتئین، آلبومین، کلسترول، نیتروژن اوره ای سرم خون و وزن نسبی کبد در جوجه های مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس می گردد. (۲، ۱۷)

بیماری بورس عفونی از بیماری های ساپرس کننده ایمنی در طیور بوده و اثر مخرب بر عملکرد ایمنی دارد که به علت کاهش و اختلال در ایجاد ایمنی بروز سایر بیماری ها را نیز باعث می شود. ترکیب دو بیماری بورس عفونی و آفلاتوکسیکوزیس باعث تشدید علائم بیماری و نیز کاهش پاسخ به واکسیناسیون در طیور می گردد. آفلاتوکسین ها اثر مخرب بر بورس داشته و چون بورس به عنوان یکی از منابع مولد پادتن می باشد، بنابراین کاهش پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی می تواند قابل پیش بینی باشد. در این تحقیق بنتونیت سدیم و دیواره سلولی مخمر بر پایه *Saccharomyces cerevisiae* به صورت جداگانه و ترکیبی جهت بررسی پاسخ به واکسیناسیون بر علیه بیماری بورس عفونی و در نتیجه تاثیر بر میزان تیترا پادتن بر علیه این بیماری در جوجه های مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس تجربی مورد مطالعه قرار گرفت.

#### مواد و روش کار

تولید آفلاتوکسین و تهیه جیره های آزمایشی: مواد خوراکی مورد

آزمایشی بطور تصادفی سه قطعه جوجه انتخاب و نمونه خون از ورید بالی با سرنگ ۲ سی سی اخذ و برای تعیین تیتراژ پادتن از روش الیزا استفاده گردید. سرم خون در آزمایشگاه با استفاده از عمل سانتریفوژ کردن در ۱۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی و سپس در ۵۶ درجه سانتی گراد در مدت ۳۰ دقیقه عمل غیرفعال سازی انجام پذیرفت و سپس نمونه های سرم خون در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان استفاده ذخیره شدند. برای اندازه گیری تیتراژ پادتن علیه بیماری گامبورو از کیت های تجاری الیزا (آیدکس) استفاده شد. کیت ها حاوی هر دو نمونه های منفی و مثبت بودند. بعد از رقیق سازی سرم و انجام مراحل آزمایش الیزا با استفاده از دستگاه ریدر اتوماتیک IBM و برنامه کامپیوتری مختص کیت میزان تیتراژ آنتی بادی نمونه های مورد مطالعه به دست آمد. دو نمونه داده از هر وقت سرم بدست آمد و میزان تیتراژ پادتن در  $\log_{10}$  با استفاده از فرمول پیشنهادی کیت بدست آمد:

$$3/36 + \text{میانگین مثبت ها} / \text{میانگین نمونه } 10 (\log) = 1/09 \log \text{ تیتراژ}$$

$$\text{کنترل نسبت} - \text{کنترل منفی} / \text{کنترل منفی} = \text{میانگین نمونه } s/p \text{ نسبت}$$

میانگین تیتراژهای پادتن هر گروه در مقایسه با کنترل منفی بدست آمد. تجزیه واریانس داده ها با استفاده از بسته نرم افزاری SAS و مقایسه میانگین ها در بین گروه های آزمایشی بر اساس آزمون دانکن (Duncan) انجام گرفت (۱۹).

### نتایج

نتایج حاصل از مصرف جیره های آزمایشی بر روی میزان تیتراژ پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی در جدول شماره یک نشان داده شده است. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش حاضر، تفاوت معنی داری از نظر میزان پادتن در سنین مختلف به جز ۲۱ روزگی مابین جوجه های تغذیه شده با جیره شاهد سالم و جوجه های تغذیه شده با جیره های حاوی آفلاتوکسین مشاهده می شود ( $P < 0/05$ ). همانطور که نتایج نشان می دهند با افزایش مدت زمان استفاده از جیره آلوده به آفلاتوکسین، اختلاف بین گروه تغذیه شده با جیره شاهد سالم و گروه تغذیه شده با جیره شاهد حاوی آفلاتوکسین از نظر میزان تیتراژ پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی بیشتر شده است. استفاده از هر دو نوع مواد جاذب سموم قارچی سبب بهبود تیتراژ پادتن در جوجه های مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس تجربی گردید. بطوری که استفاده از هر دو سطح بنتونیت سدیم سبب افزایش میزان پادتن در مقایسه با گروه شاهد تغذیه شده با جیره های حاوی ذرت کپک زده گردید ( $P < 0/05$ ). اما تاثیر سطح ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم بیشتر از سطح ۱ درصد آن بود. همچنین استفاده از دیواره سلولی مخمر در هر دو سطح ۰/۵ و ۰/۱ درصد سبب افزایش معنی داری در میزان تولید پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی گردید اما تاثیر سطح ۰/۱ درصد بیشتر از تاثیر سطح ۰/۵ درصد بود ( $P < 0/05$ ). با توجه به نتایج موجود در جدول شماره یک، تاثیر دیواره سلولی مخمر در بهبود میزان تیتراژ پادتن بیشتر از تاثیر بنتونیت سدیم بوده است. به عبارتی دیواره سلولی مخمر در کاهش اثر آفلاتوکسین بر میزان تولید پادتن، بیشتر از بنتونیت سدیم موثر بوده است. از طرف دیگر استفاده از ترکیب این دو ماده در جیره های حاوی آفلاتوکسین سبب کاهش

استفاده در جیره ی شاهد فاقد هرگونه سموم قارچی قابل تشخیص در آزمایشگاه بودند، ولی برای تهیه ی جیره ی حاوی آفلاتوکسین، ابتدا به میزان ذرت مورد نیاز در آزمایش، ذرت آلوده به قارچ از مراکز فروش محلی تهیه و سپس قارچ *A. parasiticus* و *A. flavus* از آزمایشگاه قارچ شناسی تهیه و به ذرت مورد نیاز افزوده شد. ذرت مورد نظر در دمای ۲۵ درجه ی سانتی گراد و در رطوبت ۲۵ درصد به مدت دو ماه نگهداری شد تا این که به میزان کافی آلوده به کپک گردید (۱۸). پس از این عمل ذرت مورد نظر جهت توقف رشد قارچی خشک گردید و جیره های آزمایشی حاوی آفلاتوکسین با جایگزین نمودن ذرت آلوده به جای ذرت سالم، تهیه گردید و در نهایت جیره های آزمایشی جهت تعیین و برآورد میزان آفلاتوکسین به آزمایشگاه ارسال و در آنجا طبق روش رومر آفلاتوکسین استخراج شد. سپس با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه ی نازک (Thin-Layer Chromatography) (TLC)، میزان آفلاتوکسین در جیره های آزمایشی حاوی ذرت آلوده  $250 \text{ ppb}$  برآورد گردید. (۳) از کل آفلاتوکسین موجود در جیره ۷۸/۶ درصد آن را آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، ۸ درصد آفلاتوکسین B<sub>2</sub>، ۱۱ درصد آفلاتوکسین G<sub>1</sub> و ۲/۴ درصد را آفلاتوکسین G<sub>2</sub> تشکیل می داد. برای تنظیم جیره های آزمایشی و برای محاسبه ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی از پیشنهاد های جداول استاندارد احتیاجات غذایی جوجه های گوشتی (NRC) استفاده گردید. (۱۶)

در این مطالعه که در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت، ۳۴۰ قطعه جوجه ی یک روزه گوشتی سویه راس ۳۰۸ به مدت ۷ روز قبل از شروع مرحله ی اصلی جهت عادت پذیری نگهداری شدند و با جیره سالم تغذیه شدند. در سن هفت روزگی ۲۴۰ قطعه جوجه با وزن یکسان به طور تصادفی به ۳۰ پن توزیع گشته و تحت برنامه ی نوری ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی و مصرف آزاد غذا و آب نگهداری شدند. جوجه ها به ۱۰ گروه آزمایشی ۳ تکرار و ۸ قطعه در هر تکرار توزیع گشتند. تیمار های آزمایشی شامل: ۱- جیره شاهد سالم، ۲- جیره شاهد حاوی آفلاتوکسین ۳- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم، ۴- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۱ درصد بنتونیت سدیم، ۵- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر، ۶- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر، ۷- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر، ۸- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر، ۹- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۱ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر، ۱۰- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۱ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر، بودند. جوجه ها در سنین ۱۵ و ۲۵ روزگی بر علیه بیماری بورس عفونی واکسینه شدند. قبل از این که جوجه ها به گروه های آزمایشی تقسیم شوند نمونه های خونی از جوجه ها اخذ و تیتراژ پادتن مادری بر علیه بیماری بورس عفونی تعیین گردید. در سن هفده روزگی بر اساس تیتراژ پادتن مادری علیه بیماری گامبورو، جوجه ها با استفاده از واکسن زنده با مارک تجاری CEVAC<sup>®</sup> از نوع اینترمدیت پلاس (CEVAC<sup>®</sup> IBDL) به روش آشامیدنی واکسینه شدند. برای اندازه گیری تیتراژ پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی اقدام به خونگیری در سنین ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی گردید. برای این منظور از هر واحد

### بحث و نتیجه گیری

با توجه به جدول نتایج استفاده از جیره های حاوی ذرت کپک زده سبب کاهش تیترا پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی گردیده است ( $P < 0.05$ ). گزارشات مختلف نشان می دهند که سیستم ایمنی طیور نسبت به آفلاتوکسین حساسیت بالایی دارند، آفلاتوکسین این اثر را با تحت تاثیر قرار دادن سیستم ایمنی هومورال و ایمنی با واسطه‌ی

معنی داری در تاثیر آفلاتوکسین بر کاهش تولید پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی شده است، بطوریکه جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم و ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر (تیمار شماره ۷) و یا جیره حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم و ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر (تیمار شماره ۸) در مقایسه با تیمارهای دیگر از تیترا پادتن بالایی برخوردار بودند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۱- اثر استفاده از بنتونیت سدیم و دیواره سلولی مخمر بر میزان تولید پادتن علیه بیماری بورس عفونی در جوجه های گوشتی مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس تجربی

تیمار <sup>۱</sup>	سن	۲۱ روز	۲۸ روز	۳۵ روز	۴۲ روز
۱		۳۶۹/۷۳	۱۰۴۹/۵۰ abc	۱۸۵۲/۱۰ dce	۲۷۵۶/۶۷ b
۲		۲۶۳/۹۷	۵۰۱/۹۷ e	۱۳۶۶/۱۰ e	۱۱۸۷/۳۳ e
۳		۳۶۹/۹۳	۱۰۰۴/۴۰ abc	۱۶۷۵/۰۰ dce	۲۵۷۰/۳۳ b
۴		۳۷۲/۴۰	۷۶۶/۵۳ dc	۱۴۱۸/۰۰ e	۲۰۱۸/۰۰ dc
۵		۳۵۶/۵۰	۱۲۰۹/۲۰ a	۱۵۲۷/۶۷ de	۱۶۸۶/۶۷ d
۶		۳۶۰/۶۳	۱۱۱۳/۶۳ ab	۲۱۷۳/۳۳ bc	۲۱۷۵/۰۰ c
۷		۳۹۰/۷۳	۱۳۱۶/۴۰ a	۲۵۰۷/۱۰ ba	۲۹۳۸/۳۳ b
۸		۴۶۹/۴۰	۱۲۷۹/۶۵ a	۲۷۸۳/۴۳ a	۳۳۹۲/۰۰ a
۹		۵۲۰/۴۰	۸۲۲/۸۷ bc	۱۹۴۵/۶۷ dc	۲۱۵۶/۰۰ c
۱۰		۵۱۲/۸۷	۱۰۵۸/۸۷ abc	۱۷۹۲/۶۷ dce	۲۷۴۱/۳۳ b

اعداد با حروف متفاوت در داخل هر ستون دارای اختلاف معنی دار می باشند ( $P < 0.05$ ).

ns: اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشده است.

※: اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

۱: تیمارها به ترتیب: ۱- جیره شاهد سالم. ۲- جیره شاهد حاوی آفلاتوکسین ۳- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم. ۴- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم. ۵- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر. ۶- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر. ۷- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر. ۸- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر. ۹- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر. ۱۰- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۱ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر.

مخمر ساکرومایسس سرویسیه می تواند تا ۷۷ درصد با آفلاتوکسین اتصال حاصل نماید (۲۱). هم‌چنین گزارش شده است که نوع تغییر یافته‌ی مانان الیگوساکارید که از دیواره‌ی سلولی مخمر حاصل می‌شود دارای ظرفیت اتصال بالاتری است و می‌تواند از اثرات مخرب آفلاتوکسین به‌ویژه بر روی سیستم ایمنی جلوگیری نماید. تحریک ویژه‌ی سیستم ایمنی، توسط این ترکیب در جیره‌های بوقلمون، سبب افزایش در میزان IgA و IgG پلازما شده است (۱۱). سطح خارجی دیواره‌ی سلولی ترکیبی از کربوهیدرات‌ها از جمله مانوز و مخلوطی از مانوز-پروتئین و سطح داخلی آن از گلوکان‌ها و کربوهیدرات‌های پیچیده‌ی دیگر می‌باشد. اتصال باکتری‌ها به دستگاه گوارش اغلب به‌واسطه‌ی اتصال لکتین باکتری‌ها به رسپتورهای حاوی د-مانوز می‌باشد بنابراین استفاده از محصولات حاوی کربوهیدرات بر پایه‌ی مانوز (از جمله دیواره‌ی سلولی مخمر) می‌تواند در کاهش تجمع باکتری‌های پاتوژن روده مفید باشد. از سوی سیستم ایمنی بدن، پاسخ ایمنی ذاتی برای قندهایی که تقریباً با دیواره‌ی سلولی باکتری و یا مخمر شباهت دارند، نشان می‌دهند (۱۲). افزودن سه سطح محتوی ۵۰۰ ppb و ۱۰۰۰ ppb آفلاتوکسین، نتایجی چون افزایش معنی دار در وزن بدن، راندمان غذایی، مجموع پروتئین سرم و تیترا پادتن HI در مقابل بیماری نیوکاسل را در برداشت. بهبود تیترا پادتن در این زمینه می‌تواند ناشی از جذب آفلاتوکسین توسط دیواره‌ی سلولی مخمر و همچنین تحریک ویژه‌ی سیستم ایمنی طیور توسط این ماده باشد (۱۰). بهبود تیترا پادتن و عملکرد در اثر افزودن دیواره‌ی سلولی مخمر به جیره‌های حاوی آفلاتوکسین می‌تواند ناشی از توانایی جذب سموم قارچی، مهار پاتوژن‌ها در دستگاه گوارش و تولید ایمونوگلوبولین‌ها و جلوگیری از کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانتهی در کبد به‌توسط دیواره‌ی سلولی مخمر باشد (۲۰). با توجه به نتایج موجود در جدول نتایج مشخص می‌گردد که استفاده از ترکیب هردو ماده جاذب سموم قارچی می‌تواند موثر تر از استفاده مجزای این مواد در جیره باشد، بطوریکه جیره کپک زده حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم بعلاوه ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر در مقایسه با جیره‌های دیگر سبب افزایش معنی داری در میزان تیترا پادتن گردیده است (نمودار شماره یک) ( $P < 0.05$ ).

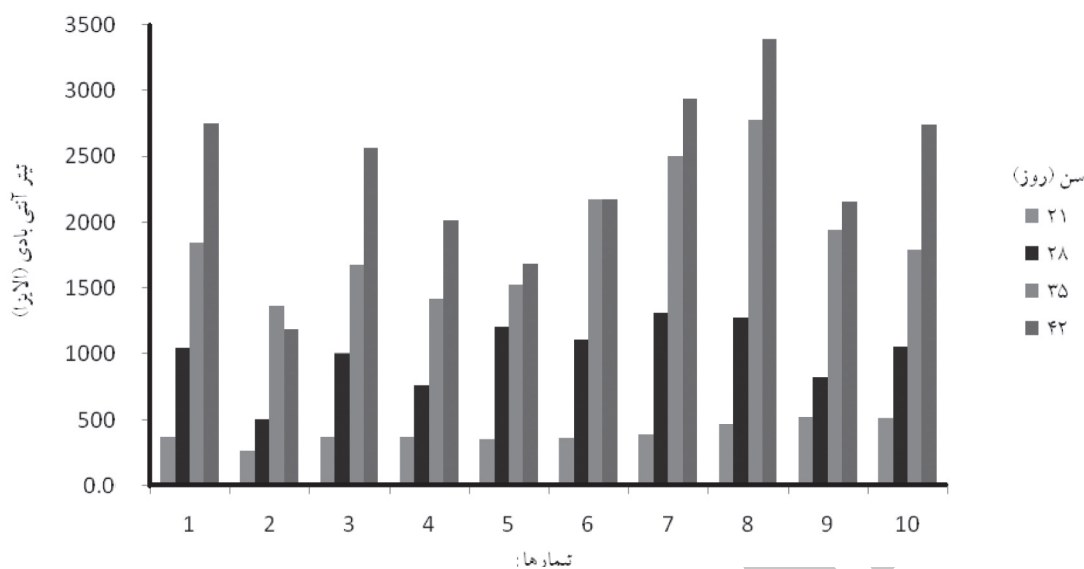
افزایش تیترا پادتن در جیره حاوی هردو ماده جاذب می‌تواند ناشی از توانایی زیاد ترکیب این دو ماده در کاهش بیشتر جذب آفلاتوکسین از روده، جذب سموم مختلف موجود در جیره غذایی حاوی ذرت کپک زده، تحریک سیستم ایمنی، کاهش باکتری‌های پاتوژن و مواد سمی در روده در مقایسه با تیمارهای دیگر باشد. نکته قابل توجه در پژوهش حاضر این است که ایمنی همورال در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی سطوح پایین آفلاتوکسین ضعیف بوده و عدم کفایت پاسخ در برابر واکسن‌ها را در بر دارد. این امر می‌تواند به وفور در شرایط مزرعه‌ای بویژه در شرایط ایران بدون بروز علائم بالینی و کلینیکی مشخص در جوجه‌ها مشاهده شود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از مخمر به میزان ۰/۱ درصد و بنتونیت سدیم به مقدار ۰/۵ درصد در جیره بویژه به صورت ترکیبی می‌تواند در کاهش اثرات جیره‌های حاوی ذرت کپک زده (آفلاتوکسین) بر سیستم ایمنی همورال موثر واقع گردد ( $P < 0.05$ ).

سلولی اعمال می‌نماید (۶). مکانیسم تضعیف سیستم ایمنی همورال به‌وسیله‌ی آفلاتوکسین به‌طور کامل مشخص نشده است ولی محققان مکانیسم‌هایی را برای آن پیشنهاد نموده‌اند. پادتن‌ها ترکیبات پروتئینی هستند که جزء اصلی سیستم ایمنی همورال را تشکیل می‌دهند. (۸) آفلاتوکسین به‌وسیله‌ی ممانعت از سنتز پروتئین، اسیدهای هسته‌ای و آسیب‌رسانی به DNA، پرکسیداسیون لیپیدها و اختلال در ساختمان و عمل غشا، مرگ سلولی و اختلال در بیان ژن، نکروز وسیع در کبد، و با تحلیل تیموس و بورس فابریسیوس در سنتز پادتن‌ها اختلال ایجاد می‌کند (۲۴). همچنین آفلاتوکسین با تحت تاثیر قرار دادن ماکروفاژها، باعث می‌شود که عمل معرفی ارگان‌های بیماری‌زا به‌وسیله‌ی ماکروفاژها به لنفوسیت‌های B که تولیدکننده‌ی پادتن هستند، دچار اختلال شده و از این طریق نیز تولید پادتن کاهش یابد. علاوه بر این آفلاتوکسین‌ها با تحت تاثیر قرار دادن ارگان‌های لنفوئیدی مثل بورس فابریسیوس، به دلیل این که لنفوسیت‌های B در این ارگان‌ها تمایز حاصل می‌کنند، می‌توانند تولید پادتن را کاهش دهند (۲۳). با توجه به نتایج حاصل، کاهش عیار پادتن با گذشت زمان معنی دار بوده است چرا که چگونگی و شدت سرکوب ایمنی، به طول دوره‌ی استفاده از جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین و میزان آفلاتوکسین در جیره بستگی دارد، یعنی آفلاتوکسیکوزیس وابسته به دوز (Dose-Dependent) می‌باشد. (۱)

آفلاتوکسین سبب کاهش فعالیت عوامل مکمل و کاهش ایمنیت با واسطه‌ی سلولی شده و در نهایت سبب پاسخ ضعیف جوجه‌های گوشتی به واکسیناسیون نیز می‌گردد. (۲۲) با بررسی تیترا پادتن در تیمار ۲ اثر منفی آفلاتوکسین بر روند تولید پادتن آشکار می‌گردد ( $P < 0.05$ ). طی تحقیقی بر روی مرغ مادر که از جیره‌ی حاوی ۰/۵ ppm آفلاتوکسین استفاده شده بود بعد از انجام واکسیناسیون بر علیه بیماری نیوکاسل، کاهش معنی‌داری در میزان تیترا پادتن بر علیه این بیماری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید (۱۴). در مطالعه دیگری کاهش تیترا پادتن بر علیه بیماری گامبورو را در جوجه‌های تغذیه شده از جیره‌ی حاوی ۲۰۰ ppb آفلاتوکسین گزارش گردیده است (۴).

همانطور که در جدول نتایج نشان داده شده است، استفاده از بنتونیت سدیم سبب بهبود تیترا پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین گردیده است. بنتونیت سدیم از طریق کاهش زیست‌فراهمی آفلاتوکسین و بنابراین دفع آن از دستگاه گوارش، سبب جلوگیری از تضعیف سیستم ایمنی می‌گردد. اثر متقابل آفلاتوکسین-بنتونیت سدیم شامل تشکیل کمپلکس بین سیستم بتا کربونیل آفلاتوکسین با رادیکال‌های آزاد بنتونیت سدیم بوده و از این طریق سبب کاهش جذب آفلاتوکسین می‌گردد (۵). با توجه به نتایج مطالعه حاضر استفاده از بنتونیت سدیم به مقدار ۰/۵ درصد در جیره (که در شرایط کاربردی نیز در همین مقدار استفاده می‌شود)، بهتر از سطح ۱ درصد در افزایش تیترا پادتن موثر بوده است. علاوه بر این سطوح بالاتر از ۰/۵ درصد به جهت جلوگیری از رقیق شدن جیره مناسب نمی‌باشد. همانند بنتونیت سدیم استفاده از دیواره سلولی مخمر بویژه در سطح ۰/۱ درصد سبب افزایش معنی داری در میزان تولید پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی آفلاتوکسین گردید ( $P < 0.05$ ). براساس تحقیقات انجام شده،





نمودار شماره یک: اثر استفاده از بنتونیت سدیم و دیواره سلولی مخمر بر میزان تولید پادتن علیه بیماری بورس عفونی در جوجه های گوشتی مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس تجربی (۲۱ الی ۴۲ روزگی)

۱- جیره شاهد سالم. ۲- جیره شاهد حاوی آفلاتوکسین. ۳ و ۴- به ترتیب جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ و ۱ درصد بنتونیت سدیم. ۵ و ۶- به ترتیب جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر. ۷- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر. ۸- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر. ۹- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۱ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر. ۱۰- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۱ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر.

- 6- Boulton, S. L, J. W. Dick and B. L. Hughes, (1981) Effects of dietary aflatoxin and ammonia-inactivated aflatoxin on Newcastle disease antibody titers in layer-breeders. *Avian Dis*, 26: 1-6.
- 7- Bridane, Y. O., Cole, R., Basmacioglu, H. and Oguz, H. (2004) *Effect of esterified glucomannan on aflatoxicosis*: 2) Serum biochemical-hematological and bone parameters. Worlds Poultry Congress. Turkey, Eistanbul. 2004.
- 8- Campbell, M.L., J.A. Doerr, J.D. May, and W.E. Huff, (1981) Immunity in young broiler chickens during simultaneous aflatoxicosis and ochratoxicosis. *Poultry Sci*, 60: 1633.
- 9- Davis, N.D. and Deiner, U.L. (1983) Some characteristics of toxigenic and nontoxigenic isolate of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Southern Coop Series Bull.Craftmaster, *Opelika, Ala*, 279-285.
- 10- Devegowda, G., Aravind, B.I.R, Rajendra, K., Morton, M.G., Baburathna, K. & Sudarshan, C. (1994) *A biological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings by the use of Saccharomyces cerevisiae cultures added to feed*. Biotechnology in the feed industry. In T.P. Lydons & K.A.

### منابع مورد استفاده

- 1- Araba, M. and R.D. Wyatt, (1991) Effects of sodium bentonite, hydrated sodium calcium aluminosilicate (Novasil), and Ethacal on aflatoxicosis in broiler chickens. *Poultry Sci*, 70:6.
- 2- Aravind, K. L., Patil, V.S., Devegowda, G., Umakantha, B. and Ganpule, S. P. (2003) Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Journal of Poultry Science*, 82:571-576.
- 3- *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)*. (1995) Official Methods of Analysis. 6th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- 4- Azzam, A.H. and M.A. Gabal, (1997) Interaction of aflatoxin in the feed and immunization against selected infectious diseases. I. Infectious bursal disease. *Avian Pathol*, 26: 317-325.
- 5- Bailey, R.H., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Buckley, S.A. and Rottinghaus, G.E. (1998) Efficacy of Various Inorganic Sorbents to Reduce the Toxicity of Aflatoxin and T-2 Toxin in broiler. *Poultry Science*, 77:1623-1630.

and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *British Poultry Science*, 41:640–650.

18- Romer, T.R. (1975) Screening method for the detection of aflatoxins in mixed feed and other agricultural commodities with subsequent confirmation and quantitative measurement of aflatoxins in positive samples. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 58:500–506.

19- SAS Institute, SAS User's Guide: Statistics. Version 6 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1985

20- Savage, T.F., P.F. Cotter and E.I. Zakrzewska, (1996) The effect of feeding mannanoligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG and bile IgA of Worldstat MW male turkeys. *Poultry Sci*, 75 (1): 143.

21- Stanley, V. G., R. Ojo, S. Woldensenbet, D. H. Hutchinson and L. F. Kubena. (1993) The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Sci*, 72:1867-1872.

22- Stewart, R.G., J.K. Skeeles, R.D. Wyatt, J. Brown, R.K. Page, I.D. Russel and P.D. Lukert, (1985) The effect of aflatoxin on complement activity in broiler chickens. *Poultry Sci*. 64:616-619.

23- Surai, P.F. and M. Mezes, (2005) Mycotoxins and Immunity: Theoretical Consideration and Practical Applications. *Praxis Veterinaria* 53:71-88.

24- Thaxton, J.P., H.T. Tung and P.B. Hamilton, (1974) Immunosuppression in chickens by aflatoxin. *Poultry Sci*, 35:721-725.

Jacques (Eds) Proceedings of Alltech's 10th Annual symposium Loughborough: Nottingham University Press, 235–245.

11- Devegowda, G., B.I.R., Aravind, and M.G., Morton, (1996) *Saccharomyces cerevisiae* and mannanoligosaccharides to counteract aflatoxicosis in broilers. Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium, Sydney, Australia. 8:103-106.

12- Eshdat, Y., I. Ofek, Y. Yehudit-Gan, Y. Yashouv-Gan, N. Sharon and D. Mirelmann, (1978) Isolation of a mannose-specific lectin from *E. coli* and its role in the adherence of the bacteria to epithelial cells. *Biochem Biophys Res Com*, 85: 1551-1559.

13- Huwig, A., Freimund, S., Kappeli, O. and Dutler, H. (2001) *Mycotoxin detoxification of animal feed by different adsorbents*. Toxicology Letterse, 122: 179-188.

14- Ibrahim I. K., A. M., Shareef and K. M. T. Al-Joubory, (2000) Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. *Res Vet Sci*, 69: 119-122.

15- Kececi, T., H. Oguz, V. Kurtoglu and O. Demet, (1998) Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Brit Poultry Sci*, 39:452–458.

16- National Research Council. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev ed. National Academy Press. Washington, DC. 1994.

17- Raju, M. V. and Devegowda, G. (2000) Influence of Esterified-Glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broiler exposed to individual

• • • • •

Archive of SID