نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۶، پاییز ۱۳۹۱

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

• **حسن قهری** (نویسنده مسئول)
استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه
• **مهدی عبداله 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 دیواره‌ی سلولی مخمر و بنتونیت سدیم به عنوان مواد جاذب سموم قارچی در کاهش مسمومیت با آفلاتوکسین در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده از جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده 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. تیمار های 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 برعلیه بیماری بورس عفونی شده است، بطوریکه جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ در صد بنتونیت سدیم و ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر، یا جیره حاوی ۰/۵ در صد بنتونیت سدیم و ۰/۱ در صد 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 homoral 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 (B۱، B۲، G۱ و G۲) به‌عنوان آلوده کننده‌های طبیعی مواد خوراکی تشخیص داده شده اند و AFB۱ (Aflatoxin B۱) سمی‌ترین ترکیب این دسته می باشد. (۹) وجود این ترکیبات در جیره سبب بروز بیماری آفلاتوکسیکوزیس می گردد که باعث یکسری علایم بالینی و کالبد گشایی در طیور می گردد. روش‌های سم‌زدایی بر تجزیه، نابود سازی، غیرفعال سازی و یا حذف آفلاتوکسین به‌وسیله‌ی روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی متمرکز شده است. یکی از این روش‌ها استفاده از مواد جاذب غیر تغذیه‌ای در جیره، از قبیل بنتونیت سدیم، دیواره‌ی سلولی مخمر و دیگر مواد جهت پیوند با آفلاتوکسین و کاهش جذب آن از دستگاه گوارش می‌باشد. در سال‌های 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 اندام‌های بدن است و با افزودن ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم به جیره‌های حاوی AFB۱ اثرات مضر این سم تخفیف می یابد.(۵، ۷ ، ۱۳، ۱۵) پژوهش‌گران همچنین نشان دادند که دیواره‌ی سلولی مخمر باعث بهبود وزن بدن، مصرف خوراک، میزان پروتئین، آلبومین، کلسترول، نیتروژن اوره‌ای سرم خون و وزن نسبی کبد در جوجه‌های 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 علایم بیماری و نیز کاهش پاسخ به واکسیناسیون در طیور می گردد. آفلا توکسین 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 cereviciae* به صورت جداگانه و ترکیبی جهت بررسی پاسخ به واکسیناسیون بر علیه بیماری بورس عفونی و در نتیجه تاثیر بر میزان تیتر پادتن بر علیه این بیماری در جوجه های مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس تجربی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

تولید آفلاتوکسین و تهیه‌ی جیره های آزمایشی: مواد خوراکی مورد

استفـاده در جیره‌ی شاهد فاقـد هرگونه سموم قارچـی قابل تشخیص درآزمایشگـاه بودند، ولی برای تهیه‌ی جیـره‌ی حاوی آفلاتوکسین، ابتدا به میـزان ذرت مورد نیاز در آزمایش، ذرت آلوده به قارچ از مراکز فروش محلـی تهیه و سپس قـارچ *A.flavus* و *A.parasiticus* از آزمایشگاه قارچ‌شناسـی تهیه و به ذرت مـورد نیاز افزوده شـد. ذرت مورد نظر در دمـای ۲۵ درجه‌ی سانتی گراد و در رطوبـت ۲۵ درصد به مدت دو ماه نگـه‌داری شد تا این‌کـه به‌میزان کافی آلوده به کپـک گردید(۱۸). پس از ایـن عمل ذرت مـورد نظر جهت توقف رشد قارچـی خشک گردید و جیره‌هـای آزمایشی حاوی آفلاتوکسین با جایگزین نمودن ذرت آلوده به جای ذرت سالم، تهیه گردید و در نهایت جیره‌های آزمایشی جهت تعیین و بـرآورد میزان آفلاتوکسین به آزمایشگاه ارسـال و در آنجا طبق روش رومـر آفلاتوکسین استخراج شد. سپس با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه‌ی نـازک (TLC) (Thin-Layer Chromatogrophy)، میزان آفلاتوکسیـن در جیره‌های آزمایش حـاوی ذرت آلوده ppb۲۵۰ برآورد گردیـد.(۳) از کـل آفلاتوکسیـن موجـود در جیـره ۷۸/۶ درصد آن‌را آفلاتوکسین B۱، ۸ درصد آفلاتوکسیـن B۲، ۱۱ درصد آفلاتوکسین G۱ و ۲/۴ درصـد را آفلاتوکسین G۲ تشکیـل می‌داد. برای تنظیم جیره‌های آزمایشی و برای محاسبه ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی از پیشنهادهای جداول استاندارد احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی (NRC) استفاده گردید.(۱۶)

در ایـن مطالعه که در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت، ۳۴۰ قطعـه جوجه‌ی یک‌روزه گوشتی سویـه راس ۳۰۸ به مدت ۷ روز قبل از شـروع مرحله‌ی اصلی جهت عادت‌پذیری نگه‌داری شدند و با جیره سالم تغذیه شدند. در سن هفت روزگی ۲۴۰ قطعه جوجه با وزن یکسان به‌طور تصادفی به ۳۰ پن توزیع گشته و تحت برنامه‌ی نوری ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی و مصرف آزاد غذا و آب نگه‌داری شدند. جوجه‌ها به ۱۰ گروه آزمایشی با ۳ تکرار و ۸ قطعه در هر تکرار توزیع گشتند. تیمارهای 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 بنتونیـت سدیم. ۵- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۰۵درصد دیواره سلولی مخمر. ۶- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمـر. ۷- جیره حاوی آفلاتوکسین+ ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر. ۸- جیره حاوی آفلاتوکسین+ ۰/۵ درصـد بنتونیت سدیـم + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر. ۹- جیره حاوی آفلاتوکسین+ ۱ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمـر. ۱۰- جیره حاوی آفلاتوکسیـن+ ۱ درصد بنتونیت سدیم + ۰/۱ درصد دیواره سلولـی مخمر، بودند. جوجه ها در سنین ۱۵ و ۲۵ روزگی بر علیه بیماری بـورس عفونی واکسینه شدند. قبل از این‌که جوجه‌ها به گروه‌هـای آزمایشی تقسیم شوند نمونه‌های خونی از جوجه‌ها اخذ و تیتر پادتـن مادری برعلیه بیماری بورس عفونی تعییـن گردید. درسن هفده روزگی بـر اساس تیتر پادتن مادری علیه بیمـاری گامبورو، جوجه ها با استفـاده از واکسن زنده با مارک تجـاری CEVAC® از نوع اینترمدیت پـلاس (CEVAC® IBDL) به روش آشامیدنـی واکسینه شدند. برای انـدازه گیری تیتر پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی اقدام به خونگیری در سنیـن ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی گردید. برای این منظور از هر واحد آزمایشی بطور تصادفی سه قطعه جوجه انتخاب و نمونه خون از ورید بالی با سرنگ ۲ سی سی اخذ و برای تعیین تیتر پادتن از روش الایزا استفاده گردیـد. سرم‌خـون در آزمایشگاه با استفاده از عمـل سانتریفوژکردن در ۱۰۰۰دور به‌مدت ۱۵ دقیقه جداسازی و سپس در ۵۶ درجه سانتی گراد در مدت ۳۰ دقیقه عمل غیرفعال‌سازی انجام پذیرفت و سپس نمونه‌های سرم خون در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان استفاده ذخیره شدند. بـرای اندازه‌گیری تیتر پادتن علیه بیماری گامبـورو از کیت‌های تجاری الایزا (آیدکس) استفاده شد. کیت‌ها حاوی هردو نمونه‌های منفی و مثبت بودنـد. بعد از رقیق سازی سرم و انجام مراحـل آزمایش الایزا با استفاده از دستگاه ریدر اتوماتیک IBM و برنامه کامپیوتری مختص کیت میزان تیتر آنتی‌بـادی نمونه‌های مورد مطالعه به‌دست آمد. دو نمونه/داده از هر رقت سرم بدست آمد و میزان تیتر پادتن در log۱۰ با استفاده از فرمول پیشنهادی کیت بدست آمد:

log تیترها ۱۰= ۱/۰۹ (log ۱۰ میانگین نمونه + میانگین مثبت ها/ ۳/۳۶

s/p= نسبت کنترل منفی - میانگین نمونه /کنترل منفی - نسبت

میانگیـن تیترهای 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 تیتر پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی در جدول شماره یک نشان داده شده است. بـا توجـه به نتایج حاصـل از آزمایش حاضر، تفاوت معنـی داری از نظر میزان پادتن در سنین مختلف به جز ۲۱ روزگی مابین جوجه های تغذیه شـده با جیره شاهد سالم و جوجه هـای تغذیه شده با جیره های حاوی آفلاتوکسیـن مشاهده می شـود (P<۰/۰۵). همانطور کـه نتایج نشان مـی دهند با افزایش مدت زمان استفـاده از جیره آلوده به آفلاتوکسین، اختـلاف بین گروه تغذیه شده بـا جیره شاهد سالم و گروه تغذیه شده با جیره شاهد حاوی آفلا توکسین از نظر میزان تیتر پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی بیشتـر شده است. استفاده از هر دو نوع مواد جاذب سموم قارچی سبب بهبود تیتر پادتن در جوجه های مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس تجربی گردید. بطوری کـه استفاده از هر دو سطح بنتونیت سدیم سبب افزایـش میزان پادتن در مقایسه با گـروه شاهد تغذیه شده با جیره های حـاوی ذرت کپک زده گردیـد (P<۰/۰۵). اما تاثیر سطـح ۰/۵ درصد بنتونیـت سدیم بیشتر از سطـح ۱ درصد آن بود. همچنیـن استفاده از دیـواره سلولی مخمر در هر دو سطـح ۰/۰۵ 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 ۰/۰۵ درصد بود (P<۰/۰۵). بـا توجه به نتایج موجود در جدول شماره یک، تاثیر دیواره سلولی مخمر در بهبـود میزان تیتر پادتن بیشتـر از تاثیر بنتونیت سدیم بوده است. به عبارتـی دیواره سلولی مخمر در کاهش اثـر آفلاتوکسین بر میزان تولید پادتـن، بیشتر از بنتونیت سدیم موثر بوده اسـت. از طرف دیگر استفاده از ترکیـب این دو ماده در جیره های حـاوی آفلاتوکسین سبب کاهش

معنـــی 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 در صـــد بنتونیت سدیم و ۰/۰۵ درصد دیـــواره سلولی مخمر (تیمار شماره ۷) و یا جیره حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم و ۰/۱ در صد دیواره سلولی مخمر (تیمار شماره ۸) در مقایسه با تیمارهای دیگر از تیتر پادتن بالایی برخوردار بودند (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

با توجـــه به جدول نتایج استفـــاده از جیره های حـــاوی ذرت کپک زده سبـــب کاهـــش تیتر پادتن بر علیـــه بیماری بـــورس عفونی گردیده اســـت(P<۰/۰۵). گزارشات مختلف نشان می‌دهنـــد که سیستم ایمنی طیور نسبت به آفلاتوکسین حساسیت بالایی دارند، آفلاتوکسین این اثر را بـــا تحت تاثیر قـــرار دادن سیستم ایمنی هومورال و ایمنی با واسطه‌ی

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[1] / 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	۲۰۱۸/۰۰dc
۵	۳۵۶/۵۰	۱۲۰۹/۲۰ a	۱۵۲۷/۶۷ de	۱۶۸۶/۶۷ d
۶	۳۶۰/۶۳	۱۱۱۳/۶۳ ab	۲۱۷۳/۳۳ bc	۲۱۷۵/۰۰c
۷	۳۹۰/۷۳	۱۳۱۶/۴۰a	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<۰/۰۵).

ns: اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشده است.

***: اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است(P<۰/۰۵).**

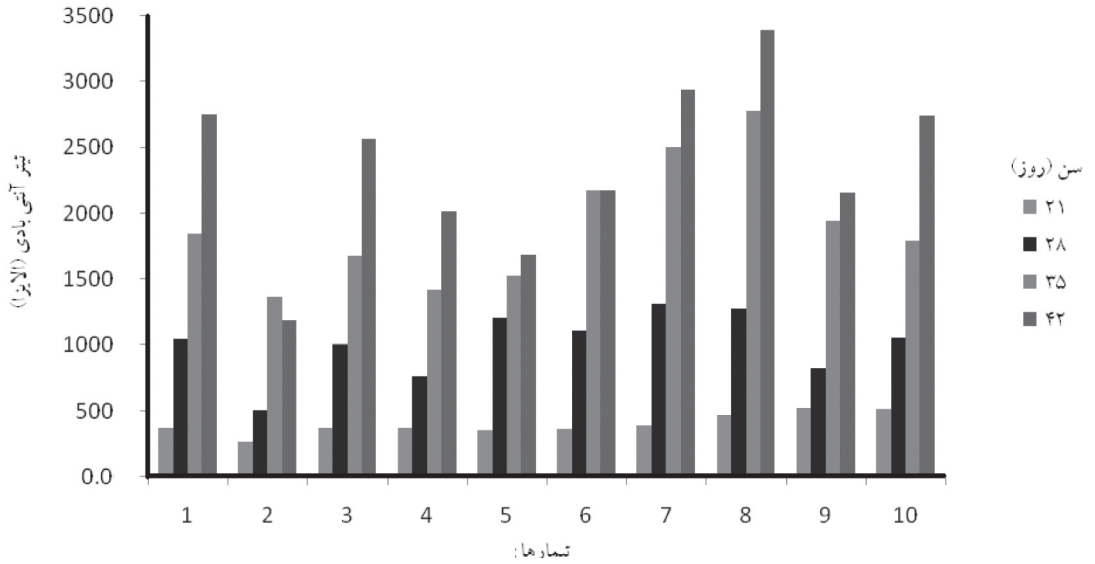
۱: تیمارها به ترتیب: ۱- جیره شـاهد سـالم. ۲- جیره شـاهد حاوی آفلاتوکســین ۳- جیره حاوی آفلاتوکســین + ۰/۵ درصد بنتونیت ســدیم. ۴- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۱ درصد بنتونیت سدیم. ۵- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۰۵ درصد دیواره سلولی مخمر. ۶- جیره حاوی آفلاتوکسین + ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر. ۷- جیره حاوی آفلاتوکســین+ ۰/۵ درصد بنتونیت ســدیم + 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.

سلولی اعمال می نماید(۶). مکانیسم تضعیف سیستم ایمنی هومورال به‌وسیله‌ی آفلاتوکسین به‌طور کامل مشخص نشده است ولی محققان مکانیسم‌هایی را برای آن پیشنهاد نموده‌اند. پادتن ها ترکیبات پروتئینی هستند که جزء اصلی سیستم ایمنی هومورال را تشکیل می دهند.(۸) آفلاتوکسین به‌وسیله‌ی ممانعت از سنتز پروتئین، اسیدهای هسته ای 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 می کند(۲۴). همچنین آفلاتوکسین با تحت تاثیر قرار دادن ماکروفاژها، باعث می‌شود که عمل معرفی ارگانیسم‌های 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، به‌دلیل این‌که 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 دُز(Dose-Dependent) می باشد.(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 می گردد.(۲۲) با بررسی تیتر پادتن در تیمار ۲ اثر منفی آفلاتوکسین بر روند تولید پادتن آشکار می گردد (P<۰/۰۵). طی تحقیقی برروی مرغ مادر که از جیره‌ی حاوی ppm ۰/۵ آفلاتوکسین استفاده شده بود بعد از انجام واکسیناسیون برعلیه بیماری نیوکاسل، کاهش معنی‌داری در میزان تیتر پادتن برعلیه این بیماری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید(۱۴). در مطالعه دیگری کاهش تیتر پادتن برعلیه بیماری گامبورو را در جوجه‌های تغذیه شده از جیره‌ی حاوی ppb ۲۰۰ آفلاتوکسین گزارش گردیده است(۴).

همانطور که در جدول نتایج نشان داده شده است، استفاده از بنتونیت سدیم سبب بهبود تیتر پادتن بر علیه بیماری بورس عفونی در جوجه های 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 می شود)، بهتر از سطح ۱ درصد در افزایش تیتر پادتن موثر بوده است. علاوه بر این سطوح بالاتر از ۰/۵ درصد به جهت جلوگیری از رقیق شدن جیره مناسب نمی باشد. 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 جوجه های تغذیه شده با جیره های حاوی آفلاتوکسین گردید(P<۰/۰۵). براساس تحقیقات انجام شده، مخمر ساکرومایسس‌سرویسیه می‌تواند 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 اتصالی 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 پلاسما شده است(۱۱). سطح خارجی دیواره‌ی سلولی ترکیبی از کربوهیدرات‌ها ازجمله 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 سویی سیستم ایمنی بدن، پاسخ ایمنی ذاتی برای قندهایی که تقریباً با دیواره‌ی سلولی باکتری ویا مخمر شباهت دارند، نشان می دهند(۱۲). افزودن سه سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۲ درصد) محیط کشت مخمر به جیره جوجه های گوشتی محتوی ppb ۵۰۰ و ppb ۱۰۰۰ آفلاتوکسین، نتایجی چون افزایش معنی دار در وزن بدن، راندمان غذایی، مجموع پروتئین سرم و تیتر پادتن HI در مقابل بیماری نیوکاسل را در برداشت. بهبود تیتر 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 تیتر 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 آنتی‌اکسیدانتی در کبد به‌توسط دیواره‌ی سلولی مخمر باشد(۲۰). با توجه به نتایج موجود در جدول نتایج مشخص می گردد که استفاده از ترکیب هردو ماده جاذب سموم قارچی می تواند موثر تر از استفاده مجزای این مواد در جیره باشد، بطوریکه جیره کپک زده حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم بعلاوه ی ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر در مقایسه با جیره های دیگر سبب افزایش معنی داری در میزان تیتر پادتن گردیده است (نمودار شماره یک) (P<۰/۰۵).

افزایش تیتر پادتن در جیره حاوی هردو ماده جاذب می تواند 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 باکتری های پاتوژن و مواد سمی در روده در مقایسه با تیمار های دیگر باشد. نکته قابل توجه در پژوهش حاضر این است که ایمنی هومورال در جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی سطوح پایین آفلاتوکسین ضعیف بوده و عدم کفایت پاسخ در برابر واکسن ها را در بر دارد. این امر می توانند به وفور در شرایط مزرعه ای بویژه در شرایط ایران بدون بروز علایم بالینی و کلینیکی مشخص در جوجه ها مشاهده شود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر می توان 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 می تواند در کاهش اثرات جیره های حاوی ذرت کپک زده (آفلاتوکسین) بر سیستم ایمنی هومورال موثر واقع گردد (P<۰/۰۵).



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 و۴- 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.

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.

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 estrefied glucomannan on aflatoxicosis*: 2) Serum biochemical-hematological and bone parameters. Worlds Poultry Congress. Turkey, Estanbul. 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.

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 Consideraton 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. Yehuidit-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 polyvynylpoly-pyrrolidone, 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