

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

• 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 گاوداری‌ها 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 نمونه های خوراک و شیر با استفاده از روش الیزا^۱ اندازه گیری شد. میانگین آلودگی آفلاتوکسین در نمونه های علف خشک یونجه گاوداری های 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 ($P>0/05$). اما اثر زمان نمونه برداری بر مقدار آلودگی آفلاتوکسین نمونه های یونجه معنی دار شد ($P<0/01$). میانگین آلودگی در نمونه های 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 نمونه های 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، شیر گاو، یونجه، ذرت سیلو شده، الیزا.

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 11.2 microgram 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. آفلاتوکسین‌ها، مایکوتوکسین‌هایی هستند که به وسیله چندین گونه از قارچ‌های آسپرژیلوس تولید می‌شوند. هنگامی که مواد خوراکی آلوده به آفلاتوکسین B₁ توسط گاوهای شیری مصرف می‌شود در کبد هیپروکسیله شده و به آفلاتوکسین M₁ تبدیل می‌شود که در شیر و ادرار حیوان قابل اندازه‌گیری است. آفلاتوکسین B₁ به عنوان گروه اول ترکیبات سرطان‌زا و آفلاتوکسین M₁ به عنوان گروه دوم ترکیبات سرطان‌زا 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 ناقص‌الخلقه 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 جبران‌ناپذیر به صنعت دامپروری، ورود آفلاتوکسین M₁ 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 M₁ 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 M₁، کنترل خوراک مورد استفاده دام‌ها می‌باشد. در زمینه آلودگی محصولات کشاورزی و شیر به آفلاتوکسین در ایران پژوهش‌هایی انجام شده است (۱، ۲، ۵). هدف از این مطالعه بررسی علوفه مورد استفاده و شیر تولیدی تعدادی از گاوهای استان کرمانشاه از نظر آلودگی به آفلاتوکسین بود.

مواد و روش‌ها

گاوهای استان کرمانشاه براساس تعداد گاوهای شیرده و شیر روزانه تحویلی به کارخانه پاستوریزه به سه دسته گاوهای کوچک، متوسط و بزرگ تقسیم شد. از هر دسته تولیدی ۳ گاوهای به طور کاملاً تصادفی انتخاب و از طریق تکمیل پرسش‌نامه از ترکیب گله، نحوه مدیریت و روش تهیه و نگه‌داری مواد خوراکی گاوهای 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 قسمت‌های سطحی، میانی و انتهایی سیلوهای ذرت نیز نمونه برداشت شد (۴، ۱۹). نمونه‌ها خشک و به وسیله آسیاب خرد شد و تا زمان اندازه‌گیری 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 طوری که ۷۰ درصد نمونه‌ها از الک عبور کرد. عصاره‌گیری نمونه‌های الک شده با متانول ۷۰ درصد و به تدریج انجام شد. به طور هم‌زمان از شیر تولیدی گاوهای نمونه برداری صورت گرفت. برای جدا کردن چربی شیر قدرت ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد (۶، ۸). نمونه‌ها از سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰ درج سلسیوس 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 الایزای ریدر با فیلتر جذب ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید (۶، ۸). از ۱۰ درصد گاوهای شیرده هر گاوهای خونگیری شد. خونگیری با استفاده از نوجکت و از ورید دمی به میزان ۱۰ میلی لیتر انجام شد. پنج میلی لیتر از نمونه‌های خون به لوله حاوی ماده ضد انعقاد سدیم سیترات انتقال داده شد و برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های هماتولوژیکی در یخچال نگهداری شد. از لوله‌های آزمایشی حاوی خون بدون ماده

به نظر می رسد علت بالا بودن آلودگی آفلاتوکسین و تغییرات زیاد مقادیر آلودگی در شیر گاوداری‌ها، تغذیه گاوهای شیرده با برخی خوراکی‌های 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 آفلاتوکسین (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 گاوداری های کوچک، متوسط و بزرگ به ترتیب ۸/۰، ۴/۰، ۷/۳، ۴/۰، ۷/۷ و ۷/۴، 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 معنی داری در میانگین مقادیر پروتئین تام، آلبومین و هموگلوبین در گاوداری های کوچک، متوسط و بزرگ مشاهده نشد ($P > 0.05$). یکی از اثرات بیولوژیک آفلاتوکسین، اثر بر پروتئین های سرم می باشد. آسیب رسانی سموم قارچی به ویژه آفلاتوکسین به تکثیر دائمی و تمایز سلول هایی که در فعالیت سیستم ایمنی با واسطه سلول شرکت می کنند، موجب نقص عملکرد سیستم ایمنی می شود (۱۴). از آن جا که پاسخ ایمنی به سنتز ماکرومولکول ها و فعال کننده های سلولی وابسته است، سموم قارچی سبب تضعیف سیستم ایمنی شوند. در یک مطالعه برای یافتن اثر مقادیر کم آفلاتوکسین بر فراسنجه های خونی گوسفندان از جیره های حاوی ۱۳۸ و ۵۲ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین به مدت ۱۵۰ روز استفاده شد و اختلاف معنی داری در مقادیر فراسنجه های خونی هموگلوبین، آلبومین، پروتئین تام، گلوبولین، تری گلیسرید و اوره خون گوسفندان تغذیه شده با جیره های حاوی مقادیر متفاوت آفلاتوکسین مشاهده نشد (۱۰، ۱۷).

نتیجه گیری و پیشنهادات

در مطالعه حاضر ۶۷ درصد نمونه های شیر حاصل از گاوداری های 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 گاوداری ها و شیر تولیدی ۰/۹۱ برآورد گردید. این مقدار همبستگی نشان می دهد که هر چه مقدار آلودگی آفلاتوکسین خوراک دام ها بیشتر باشد سطح آفلاتوکسین در شیر آن ها افزایش می یابد و می تواند تهدیدی برای سلامت عمومی مصرف کنندگان به ویژه کودکان و افراد مسن باشد. موثرترین روش جلوگیری از آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1

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). گلبول های قرمز و سفید با استفاده از دستگاه شمارنده سلولی سیسمکس^۲ ساخت ژاپن تعیین گردید (۱۳) تعداد گلبول های 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 3×2 (۳ دسته گاوداری \times دو زمان نمونه گیری) با طرح پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت. همبستگی بین مقدار آفلاتوکسین و مقادیر شیر تولیدی تعیین گردید و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

میانگین مقدار آفلاتوکسین B در نمونه های علف خشک یونجه در گاوداری های 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 نمونه های علف خشک یونجه در گاوداری های 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 \times زمان نشان داد که آلودگی آفلاتوکسین نمونه های علف خشک یونجه در هر سه دسته گاوداری در بهمن ماه بیشتر از دی ماه بود ($P < 0.05$).

میانگین مقدار آفلاتوکسین در نمونه های ذرت سیلو شده در گاوداری های 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 نمونه های 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 گاوداری ها به ویژه روش ذخیره و نگه داری علوفه بود. گاوداری های کوچک اغلب تحت شرایط غیربهداشتی اداره می شدند که این امر خود گسترش کپک زدگی و تولید سم در خوراک دام ها را در اثر رطوبت و بارندگی فصل زمستان تسریع می نماید. برخی گاوداری های 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 علوفه ها 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 هوایی 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 نمونه های شیر در جدول ۲ آورده شده است. میانگین آفلاتوکسین نمونه های شیر گاوداری های 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 نمونه های شیر معنی دار نبود ($P > 0.05$).

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

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

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

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

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

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

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

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.

کاهش افلاتوکسین B1 در مواد غذایی و مکمل های مورد استفاده برای گاوهای شیری است لذا توصیه میشود خوراک موجود در گاوداری ها از نظر مقدار آلودگی به آفلاتوکسین مورد ارزیابی دائمی قرار گیرد. ذخیره و برداشت علوفه و سایر مواد خوراکی به صورت فنی و بهداشتی انجام گیرد و خوراک های مستعد به کپک زدگی به ویژه آرد و نان خشک و تفاله چغندر قند باران خورده و علوفه های مرطوب و کپک زده از جیره غذایی گاوهای شیرده حذف شوند.

پاورقی ها

- 1- ELISA
- 2- Sysmex

منابع مورد استفاده

- ۱- حسینی نیا، د.، (۱۳۸۵) میزان آفلاتوکسین در شیر گاوداری ها و کارخانجات شیر پاستوریزه کرمانشاه. 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 شیر پاستوریزه تهران به آفلاتوکسین M1 با استفاده از روش الیزا. مجله بهداشت ایران شماره ۴۲ - ۴۰، صفحات ۱۶۵ - ۱۶۳.
- ۳- محسن زاده، م.، (۱۳۸۴) اهمیت کنترل و بررسی آفلاتوکسین در شیر و مواد لبنی. مجموعه مقالات برگزیده اولین جشنواره شیر منطقه شمال کشور. دانشگاه مازندران - ساری، صفحه ۱۰۶
- ۴- نوریان، ا.، معینی، م. م. و بحیرائی، ا.، (۱۳۸۶) اصول تجزیه خوراک دام و طیور. دانشگاه رازی، صفحه ۲۰۱.

- 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 lymphocytes 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 foodstuffs.
- 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.



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

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