Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 12, Number 3 (July - August)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Protective Effect of Egg Yolk Immunoglobulin (IgY) Against Aflatoxin on Blood Parameters, Ileum Morphometry and Hepatocytes' Histopathology of Broiler Chickens Fed Aflatoxin B1

Ali Nakhaei[1], Nazar Afzali[1], Seyyed Javad Hosseini Vashan[1], Mohammad Amir Karimi Torshizi[2]

1. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
2. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tarbiyat modares, Tehran, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2018/07/01
Accepted: 2018/08/01
Available online: 2018/10/11

Article Subject:
Food Microbiology

IJMM 2018; 12(3): 199-207

Corresponding author:

Nazar Afzali
Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
Tel: 09151612157
Email:
nafzali@birjand.ac.ir

Use your device to scan and read the article online

Abstract

Background and Aims: The aim of this study was to evaluate the protective effect of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) against aflatoxin on reducing the defects of aflatoxin by adding to the drinking water of 192 day Ross 308 broiler chickens from 1 to 42 days old.

Materials and Methods: The experiment was based on a completely randomized design with 6 treatments, 4 replications, and 8 observations (chicks). First egg yolks were immunized against aflatoxin by injecting aflatoxin-BSA conjugate to laying hens. Also extracted immunoglobulin with 1 and 0.5 percent /volume concentration was added to broilers' drinking water. The experimental treatments were: 1) control (without any additives); 2) ration contaminated with 1 mg kg^{-1} aflatoxin B1 (negative control treatment); 3) negative control + 0.5% (V/V) immunized yolk against AFB_1, 4) negative control + 0.5% (V/V) unimmunized yolk against AFB_1; 5) negative control + 1% (V/V) immunized yolk against AFB_1 and 6) negative control + 1% (V/V) unimmunized yolk against AFB_1.

Results: Using aflatoxin contaminated diet significantly increased serum cholesterol, and decreased serum total protein and albumin concentration ($P<0.05$). Also, histopathologic lesions observed in the liver. Adding 1 % (V/V) of immunized egg yolk to the drinking water (treatment 5) reduced serum cholesterol and increased total protein concentration compared to treatment 2 ($P<0.05$). The length and width of the villi and the villi surface area of chicks receiving treatment 5 were higher than treatment 2 ($P<0.05$). Liver tissue in chicken receiving treatment 3 and 5, was almost normal and few changes were observed in hepatocytes.

Conclusions: The results indicate that specific IgY against AFB_1 can be effective in reducing the defects of experimental aflatoxicosis as a detoxification agent.

Keywords: Aflatoxin B_1, Blood parameters, Specific immunoglobulin

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Nakhaei A, Afzali N, Hosseini Vashan S J, Karimi Torshizi M A. Protective Effect of Egg Yolk Immunoglobulin (IgY) Against Aflatoxin on Blood Parameters, Ileum Morphometry and Hepatocytes' Histopathology of Broiler Chickens Fed Aflatoxin B1. Iran J Med Microbiol. 2018; 12 (3) :199-207

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۲ – شماره ۳ – مرداد-شهریور ۱۳۹۷

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی اثر محافظتی ایمنوگلوبولین اختصاصی زردۀ تخم‌مرغ (IgY) علیه آفلاتوکسین بر فراسنجه‌های خونی، مورفومتری ایلئوم و هیستوپاتولوژی سلول‌های کبد جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با آفلاتوکسین B_1

علی نخعی[۱]، نظر افضلی[۱]، سید جواد حسینی واشان[۱]، محمدامیر کریمی ترشیزی[۲]

۱. گروه علوم دامی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچۀ مقاله
دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۱۰
پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۱۰
انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۰۷/۱۹
موضوع:
میکروبیولوژی مواد غذایی

IJMM1397;12(3): 199-207

نویسندۀ مسئول:
نظر افضلی
گروه علوم دامی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
تلفن: ۰۹۱۵۱۶۱۲۱۵۷
پست الکترونیک:
nafzali@birjand.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: این تحقیق به‌منظور بررسی اثر محافظتی ایمنوگلوبولین اختصاصی زردۀ تخم‌مرغ (IgY) علیه آفلاتوکسین بر کاهش عوارض آفلاتوکسین از طریق افزودن به آب آشامیدنی ۱۹۲ قطعه جوجۀ گوشتی یک‌روزه سویۀ راس ۳۰۸ از سن ۱ تا ۴۲روزگی انجام شد.

مواد و روش کار: آزمایش به‌صورت کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۴ تکرار و ۸ مشاهده (جوجه) صورت پذیرفت. ابتدا با تزریق کنژوگه آفلاتوکسین B_1- آلبومین سرم گاوی به مرغان تخم‌گذار، زردۀ حاوی IgY علیه آفلاتوکسین تولید (زردۀ ایمن) شد و در ادامه ایمنوگلوبولین استخراج‌شده با غلظت‌های ۱ و ۰/۵ درصد (حجمی) به‌صورت مخلوط با آب آشامیدنی استفاده شد. در این مطالعه گروه‌ها برحسب نوع تیمار عبارت‌اند از: ۱) شاهد (بدون هیچ افزودنی)؛ ۲) جیره حاوی یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 (تیمار شاهد منفی)؛ ۳) شاهد منفی + ۰/۵ درصد حجمی زردۀ ایمن؛ ۴) شاهد منفی + ۰/۵ درصد حجمی زردۀ غیرایمن؛ ۵) شاهد منفی + ۱ درصد حجمی زردۀ ایمن؛ ۶) شاهد منفی + ۱ درصد زردۀ حجمی غیرایمن.

یافته‌ها: جیرۀ حاوی آفلاتوکسین سبب افزایش غلظت سرمی کلسترول و کاهش غلظت سرمی پروتئین تام و آلبومین شد ($P<۰/۰۵$). همچنین ضایعات هیستوپاتولوژیکی در کبد مشاهده شد. افزودن یک درصد حجمی زردۀ ایمن به آب آشامیدنی (تیمار ۵)، موجب کاهش غلظت سرمی کلسترول و افزایش غلظت پروتئین تام در مقایسه با تیمار ۲ شد ($P<۰/۰۵$). طول و عرض ویلی و سطح پرز رودۀ جوجه‌های دریافت‌کنندۀ تیمار ۵ بالاتر از تیمار ۲ بود ($P<۰/۰۵$). در طیور دریافت‌کنندۀ تیمارهای ۳ و ۵، برش بافت کبد تقریباً نرمال و تغییرات کمی در سلول‌های کبدی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت IgY اختصاصی زردۀ تخم‌مرغ علیه آفلاتوکسین می‌تواند در کاهش اثرات آفلاتوکسیکوزیس تجربی به‌عنوان یک عامل سم‌زدایی مؤثر واقع شود.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین B_1، سم‌زدایی، ایمنوگلوبولین Y، فراسنجه‌های خونی، هیستوپاتولوژی

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفادۀ علمی از این مقاله برای مجلۀ میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

آفلاتوکسین B_1 از نظر بیولوژیکی فعال‌ترین مشتق آفلاتوکسین از بین انواع آفلاتوکسین‌های شناخته‌شده (B_1، G_2،G_1 و B_2) است که موجب مهار سنتز DNA، RNA و کاهش سنتز پروتئین و حساسیت نسبت به استرس‌های میکروبی و محیطی می‌شود (۱).

تاکنون روش‌های بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی متعددی برای خنثی‌کردن آفلاتوکسین بررسی شده است (۲). یک روش به‌کارگیری مواد جاذب در جیرۀ غذایی است که با آفلاتوکسین‌ها پیوند ایجاد کرده و جذب آنها را در دستگاه گوارش کاهش می‌دهد (۳). اما محدودیت‌های روش‌های فیزیکی و شیمیایی محققان را به

جستجوی روش‌های مؤثر جایگزین وادار کرده است. به‌تازگی روش‌های بیولوژیکی به‌علت قابلیت استفادهٔ آسان و کم‌هزینه، توجه محققین را جلب کرده است (۴). نخستین بار در سال ۱۹۸۳ کسب ایمنی اکتسابی غیرفعال در برابر سم تتانوس از طریق انتقال ایمنی از مرغ به جوجه‌ها اثبات شد (۵). مطالعات نشان داد که IgY ایمنی ایجادشده را از مرغ مادر به جوجه‌ها منتقل می‌کند. تولید پادتن از سوی مرغ‌ها مزیت‌های فراوانی دارد؛ از جمله اینکه اقتصادی بوده و از طرفی فقط نیاز به جمع‌آوری روزانهٔ تخم‌مرغ‌ها در مقایسه با خون‌گیری از پستانداران دارد.

ایمونوگلوبولین Y (IgY) در طیور معادل ایمونوگلوبولین G (IgG) در پستانداران است که به‌صورت غیرفعال از جنین در حال رشد محافظت می‌کند. در بدن طیور سه نوع پادتن IgA، IgY و IgM یافت می‌شود (۶). در طول مراحل تولید تخم‌مرغ، IgY موجود در سرم به‌صورت انتخابی و از طریق گیرنده‌های موجود در سطح غشای زرده به داخل زرده منتقل می‌شود (۷). IgA و IgM نیز به داخل سفیده منتقل می‌شوند (۸). پژوهشگران، استفاده از IgYرا برای مقابله یا پیشگیری از عوامل بیماری‌زا نظیر سالمونلا و آنفلوانزای پرندگان بررسی کرده‌اند (۹،۱۰). همچنین برای تشخیص سموم قارچی مختلف با استفاده از تکنیک ELISA از IgY استفاده شده است (۱۱). Tsukamoto و همکاران (۱۲) توانستند IgY ضدویروس آنفلوانزای A/H1N1 2009 را با استفاده از واکسن آنفلوانزای خوکی تهیه کنند. پادتن‌های به‌دست‌آمده به‌شدت نسبت به هر دو سویه آنفلوانزای خوکی و انسانی ویروس واکنش داده و در شرایط آزمایشگاهی قادر به خنثی‌سازی ویروس A/H1N1 شد. نخستین بار Qiu و همکاران با مطالعه روی سلول‌های انسانی و بررسی سمیت سلولی ناشی از آفلاتوکسین B_1 نشان دادند که ایمنوگلوبولین اختصاصی زردهٔ تخم‌مرغ توانایی اتصال به توکسین‌هایی همچون آفلاتوکسین B_1 را داشته و می‌تواند از اثرات این توکسین‌ها بکاهد (۲۵). ازاین‌رو هدف از این بررسی امکان بهره‌برداری خوراکی از IgY تولیدی علیه آفلاتوکسین B_1 در کاهش اثرات آفلاتوکسیکوزیس براساس شاخص‌های مرتبط با بیوشیمی خون، مورفومتری ایلئوم و هیستوپاتولوژی کبد جوجه‌های گوشتی است.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش

این پژوهش در سالن تحقیقاتی واحد دام‌پروری دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه بیرجند در مهرماه ۱۳۹۶ انجام شد.

تولید سم

کشت قارچ آسپرژیلوس فلاووس سویه NRRL 2999 در محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) (Merck، آلمان) انجام شد. سپس قارچ بر فلاسک‌های حاوی ۲۵ گرم برنج و ۱۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر تحت شرایط استریل، به‌منظور رشد و تولید توکسین اضافه و به انکوباتور (شیماز، ایران) با دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس منتقل شد. پس از سپری‌شدن هفت روز، فلاسک‌ها برای غیرفعال شدن قارچ و جلوگیری از آلودگی محیط اتوکلاو شده و برنج‌های آلوده در محیطی به‌دور از تابش نور خورشید خشک شدند (۱۳). اندازه‌گیری غلظت سم آفلاتوکسین از طریق HPLC در آزمایشگاه تستای مشهد انجام شد.

ایمن‌سازی پرندگان و تولید IgY

ایمن‌سازی مرغان تخم‌گذار و تولید IgY با استفاده از کونژوگه آفلاتوکسین B1- آلبومین سرم گاوی (AFB1-BSA Conjugate) (Sigma، آلمان) انجام شد. تزریق طی سه مرحله و به فواصل ۱۴ روز و به روش عضلانی در دو نقطه از سینه انجام شد. کنژوگه به‌ترتیب با ۰/۲ میلی‌لیتر ادجوانت کامل فروند در تزریق اول و ادجوانت ناقص فروند در تزریقات بعدی همراه بود تا پاسخ ایمنی مناسب‌تری به‌دست آید (۱۴). استخراج IgY طبق روش Fulton و همکاران انجام گرفت (۱۴). به‌اختصار ابتدا زردهٔ تخم‌مرغ به‌طور کامل از سفیده جدا شد. به‌اندازهٔ حجم زردهٔ به‌دست‌آمده، محلول بافر فسفات نمکی افزوده و مخلوط حاصل به‌مدت سه دقیقه با سرعت بالا در دستگاه مخلوط‌کن همگن شد و سپس در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه و با نیروی g × ۱۸۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ لایهٔ میانی حاوی IgY جمع‌آوری شد. برای تعیین قابلیت زردهٔ ایمن‌شده در کاهش سم آفلاتوکسین B1، مقدار ۵۰ میکرولیتر از زردهٔ استخراج‌شده از تخم پرندگان ایمن و غیرایمن پس از رقیق‌سازی به یک میلی‌لیتر بافرفسفات حاوی ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر آفلاتوکسین B1 افزوده شد. پس از یک ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس، با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محلول اسید تری‌کلرواستیک ۱۰ درصد، مجموعهٔ IgY و آفلاتوکسین B1 متصل به آن با استفاده از سانتریفیوژ رسوب داده شد. سم غیرمتصل باقی‌مانده در مایع رویی پس از استخراج در ۵۰ میکرولیتر کلروفرم مخلوط و روی صفحه TLC (Thin-layer Chromatography)TLC (صفحهٔ آلومینیومی همراه با سیلیکاژل F_{254} 60؛ Merck، آلمان) در یک راستا و همراه استاندارد سم نقطه‌گذاری شد. صفحه در یک بشر محتوی محلول

کلروفرم: استون: آب (۸۸: ۱۱: ۱) قرار گرفت سپس در معرض هوا خشک و تحت نور لامپ UV (۳۶۵ nm) شدت نقطۀ فلورسنس نمونه با نقطۀ فلورسنس استاندارد مقایسه شد (۱۳).

مدل آزمایش

تعداد ۱۹۲ جوجۀ گوشتی نر سویۀ راس (۳۰۸) به‌طور تصادفی بین ۲۴ قفس (۸ جوجه در هر قفس) توزیع شدند. پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۴ تکرار و ۸ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) شاهد (بدون هیچ افزودنی)؛ ۲) جیره حاوی یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 (تیمار شاهد منفی)؛ ۳) شاهد منفی + ۰/۵ درصد حجمی زردۀ تخم‌مرغ ایمن؛ ۴) شاهد منفی + ۰/۵ درصد حجمی زردۀ تخم‌مرغ غیرایمن؛ ۵) شاهد منفی + ۱ درصد حجمی زردۀ تخم‌مرغ ایمن؛ ۶) شاهد منفی + ۱ درصد حجمی زردۀ تخم‌مرغ غیرایمن. زردۀ تخم‌مرغ براساس درصد حجمی به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی اضافه شد.

ارزیابی بیوشیمیایی سرم خون

در انتهای دورۀ آزمایش (۴۲روزگی) از هر تیمار ۸ قطعه جوجه انتخاب و خون‌گیری از ورید بال به‌منظور تعیین پارامترهای بیوشیمیایی خون انجام گرفت. میزان پروتئین تام (TP) و آلبومین (ALB) و آنزیم‌های سرم خون از قبیل آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و لیپیدهای خون شامل میزان کلسترول (CHOL)، تری‌گلیسرید (TG)، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون در دستگاه اتوآنالیزر (Geesan، ایتالیا) اندازه‌گیری شد.

مورفومتری ایلئوم و هیستوپاتولوژی کبد

در ۴۲روزگی با انتخاب دو پرنده از هر تکرار و ذبح جوجه‌ها، شکم هر پرنده را باز کرده و یک قطعه حدوداً ۱۰ سانتی‌متری از ایلئوم و کبد آنها جدا شد. قطعه‌های کبد و ایلئومی (۰/۵cm × ۰/۵) در داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و در دمای محیط و به‌دور از نور به‌مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد تا مطالعات بافتی روی آنها انجام گیرد. در ادامه نمونه‌هایی که در بافر ۱۰ درصد فرمالین قرار داشتند، پس از خارج‌کردن و شستشو با آب مقطر به تفکیک در یک سبد (حدوداً ۳cm × ۲) گذاشته و در داخل دستگاه آماده کنندۀ بافت (Tissue processor) قرار داده شدند تا مراحل ثابت کردن، آبگیری، شفاف‌کردن و آغشتگی آنها با پارافین انجام پذیرد. پس از خروج از دستگاه، از هر نمونۀ فیکس‌شده، یک بلوک پارافین تهیه شد (۱۵). سپس از هر بلوک، برش مقطعی تهیه و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد تا بتوان صفات بافتی را با کمک میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار Image Pro Plus v 4.5 اندازه‌گیری کرد (۱۶). در مورفومتری ایلئوم طول و عرض ویلی، شاخص پرز (نسبت طول به عرض ویلی) و سطح پرز (عرض × طول/۱۰۰۰) بررسی شد.

آنالیز آماری

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS و روش مدل خطی عمومی (GLM) تجزیه‌وتحلیل شد (۱۷). میانگین گروه‌های آزمایشی با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

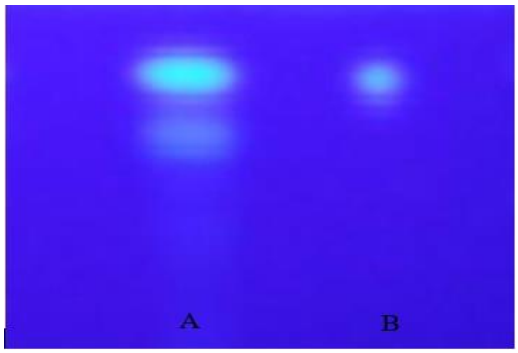
یافته‌ها

غلظت سم تولیدی

آزمایشگاه تستا میزان آلودگی دانه‌های برنج به آفلاتوکسین B_1 را ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش کرد.

استخراج پادتن و قابلیت آفلاتوکسین‌زدایی زردۀ ایمن‌شده

با بررسی صفحات سیلیکاژل زیر نور فلورسنس (شکل ۱) مشاهده شد میزان کاهش سم در زردۀ ایمن‌شده علیه آفلاتوکسین B_1 بیشتر از زردۀ ایمن نشده است.



شکل ۱. بررسی قابلیت زردۀ ایمن‌شده در کاهش سم آفلاتوکسین B_1 در شرایط آزمایشگاهی و با استفاده از صفحات کروماتوگرافی سیلیکاژل. A: غلظت سم آفلاتوکسین B_1 تحت‌تأثیر زردۀ ایمن‌نشده علیه آفلاتوکسین B_1، B: غلظت سم آفلاتوکسین B_1 تحت‌تأثیر زردۀ ایمن‌شده علیه آفلاتوکسین B_1

بیوشیمیایی سرم خون

نتایج تأثیر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر غلظت سرمی لیپیدها، پروتئین‌ها و آنزیم‌های کبدی جوجه‌های گوشتی در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج، آلوده‌شدن خوراک جوجه‌های گوشتی به یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین موجب بالارفتن سطح سرمی کلسترول خون جوجه‌های گوشتی شد. پایین‌ترین

میزان کلسترول خون جوجه‌های گوشتی تحت‌تأثیر افزودن یک درصد زردهٔ تخم‌مرغ فاقد IgY به آب آشامیدنی است که در مقایسه با تیمار شاهد منفی اختلاف آن معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). مصرف جوجه‌های گوشتی از خوراک تیمار شاهد منفی موجب افزایش میزان لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) شد. اضافه‌کردن زردهٔ تخم‌مرغ حاوی و فاقد IgY به آب آشامیدنی جوجه‌های تغذیه‌شده با خوراک آلوده، موجب کاهش میزان LDL خون جوجه‌های گوشتی شد. کمترین غلظت سرمی LDL تحت‌تأثیر افزودن ۰/۵ درصد زردهٔ تخم‌مرغ حاوی IgY به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی که در مقایسه با تیمار شاهد منفی اختلاف آن معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). غلظت سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز و گاماگلوبولین ترانسفراز بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد. مصرف جوجه‌های گوشتی از خوراک تیمار شاهد منفی موجب کاهش غلظت پروتئین تام و آلبومین خون جوجه‌های گوشتی شد که در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری دارد ($P<۰/۰۵$). افزودن زردهٔ تخم‌مرغ به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی موجب افزایش میزان پروتئین تام و آلبومین خون جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد منفی شد. بالاترین غلظت سرمی آلبومین و پروتئین تام تحت‌تأثیر افزودن یک درصد زردهٔ تخم‌مرغ حاوی IgY به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی است که در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف آن معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱. تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت سرمی لیپیدها، پروتئین‌ها و آنزیم‌های کبدی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) جوجه‌های گوشتی در ۴۲روزگی

تیمارها	CHOL	TG	HDL	LDL	AST	ALB	GGT	TP
شاهد	۱۲۳/۲۵^{ab}	۸۸/۲۵	۷۴/۲۵	۳۲/۲۵^{ab}	۳۳۳/۷۵	۱/۵۵^{ab}	۲۴/۷۵	۲/۶۰^{a}
شاهد منفی	۱۵۵/۰۰^{a}	۹۰/۲۵	۷۹/۰۰	۴۵/۰۰^{a}	۳۸۲/۷۵	۱/۲۶^{bc}	۲۵/۷۵	۱/۸۳^{b}
۰/۵ درصد زردهٔ ایمن	۱۲۴/۳۳^{ab}	۸۹/۰۰	۸۱/۳۳	۲۲/۳۳^{b}	۳۴۶/۳۳	۱/۵۳^{ab}	۲۴/۶۶	۲/۴۶^{a}
۰/۵ درصد زردهٔ غیرایمن	۱۱۱/۴۲^{b}	۷۷/۶۷	۷۱/۶۶	۲۷/۰۰^{b}	۳۵۸/۶۷	۱/۳۵^{c}	۲۳/۶۶	۱/۸۳^{b}
۱ درصد زردهٔ ایمن	۱۳۰/۰۰^{ab}	۸۷/۳۳	۷۹/۰۰	۳۰/۰۰^{ab}	۳۷۱/۵۰	۱/۷۰^{a}	۲۵/۳۳	۲/۶۶^{a}
۱ درصد زردهٔ غیرایمن	۱۱۲/۳۳^{b}	۸۶/۰۰	۷۲/۱۶	۲۸/۶۶^{ab}	۳۴۳/۶۷	۱/۳۶^{bc}	۲۲/۰۰	۲/۲۳^{ab}
سطح معنی‌داری	۰/۰۰۹۰	۰/۲۳۲۱	۰/۰۶۸۰	۰/۰۰۵۵	۰/۲۶۴۲	۰/۰۰۰۵	۰/۳۶۴۴	۰/۰۰۰۹
خطای آزمایشی	۷/۶۳	۱۰/۱۴	۲/۳۷	۳/۸۵	۲۵/۷۴	۰/۰۵	۱/۲۵	۰/۱۱
انحراف‌معیار	۱۲/۱۰	۲۴/۴۲	۶/۲۲	۲۴/۶۲	۱۵/۱۶	۷/۹۰	۱۰/۳۰	۱۰/۱۹

a, b, c: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون، تفاوت معنی‌دار آماری دارند ($P< ۰/۰۵$).

مورفومتری ایلئوم

تأثیر تیمارهای مختلف بر مورفومتری ایلئوم جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ ارائه شده است. کمترین طول ویلی در جوجه‌هایی که از خوراک آلوده به یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین تغذیه شدند، اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مثبت دارد ($P<۰/۰۵$). افزودن زردهٔ تخم‌مرغ به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی موجب افزایش طول ویلی ایلئوم جوجه‌های گوشتی شد ($P<۰/۰۵$). کمترین عرض ویلی مشاهده‌شده در مورفومتری ایلئوم جوجه‌های گوشتی تحت‌تأثیر افزودن یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به جیرهٔ پایهٔ جوجه‌های گوشتی است. بالاترین عرض ویلی تحت‌تأثیر افزودن یک درصد زردهٔ تخم‌مرغ حاوی IgY به جیرهٔ شاهد منفی (تیمار ۵) است که در مقایسه با تیمار شاهد منفی (تیمار ۲) اختلاف معنی‌داری دارد ($P<۰/۰۵$). شاخص پرز و سطح پرز در جوجه‌های تغذیه‌شده با یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین در مقایسه با تیمار شاهد مثبت، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). افزودن زردهٔ تخم‌مرغ حاوی اینوگلوبولین اختصاصی به جیرهٔ آلوده به آفلاتوکسین، موجب بهبود سطح پرز و شاخص پرز ایلئوم جوجه‌های گوشتی شد ($P<۰/۰۵$).

هیستوپاتولوژی کبد

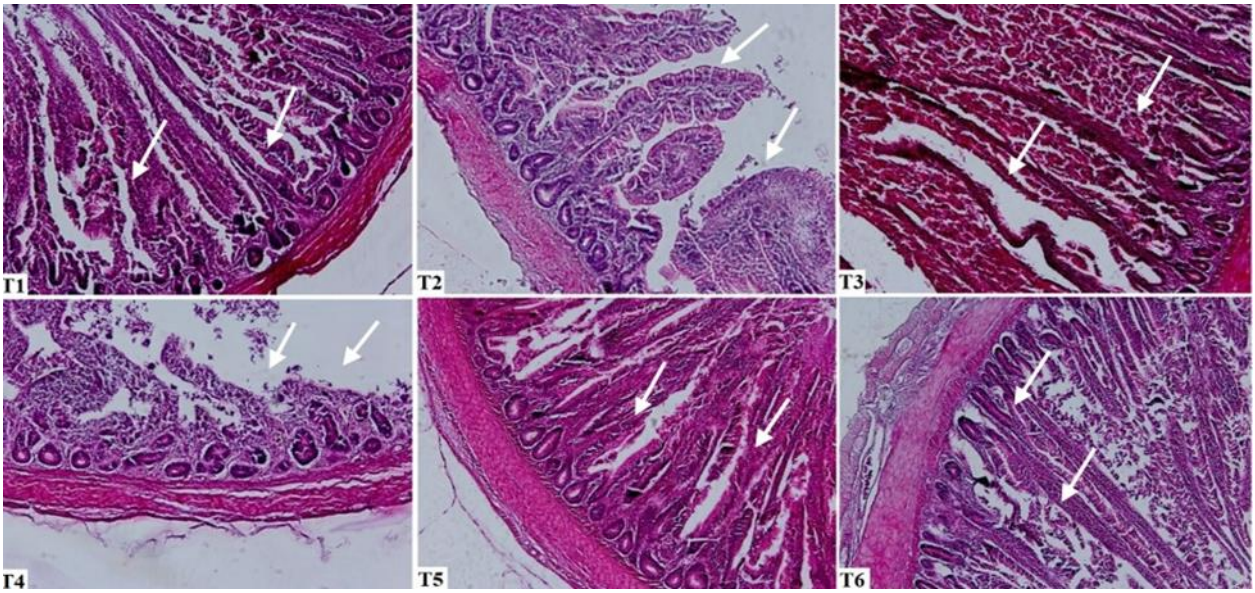
فتومورفوگراف آسیب‌شناسی بافتی کبد طیور تحت‌تأثیر تیمارهای مختلف (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین) در شکل ۲ قابل‌مشاهده است. در پایان دورهٔ آزمایش (۴۲روزگی)، آسیب‌شناسی بافتی کبد طیور دریافت‌کنندهٔ جیره‌های آلوده‌شده با سم آفلاتوکسین نشان‌دهندهٔ نفوذ سلول‌های مونونوکلئار

(Mononuclear) در نواحی پورتال، تکثیر غیرمجاری صفراوی، تخریب وسیع، نکروز، ایجاد حفره‌های سیتوپلاسمی و فساد چربی در هپاتوسیت‌ها، همراه با مشاهدهٔ نواحی پری لوبولار (Perilobular) است (نواحی‌ای که با نوک پیکان مشخص شده است). برش بافت کبد طیور دریافت‌کنندهٔ جیره‌های محتوی سطوح زردهٔ تخم‌مرغ حاوی ایمنوگلوبولین اختصاصی تقریباً نرمال بوده و نشان‌دهندهٔ انتشار گسستهٔ تورم سلولی، همراه با تأثیرات خفیف بر هپاتوسیت‌ها و تغییرات خفیف سیتوپلاسمی بود (نواحی‌ای که با نوک پیکان مشخص شده است).

جدول ۲. تأثیر تیمارهای مختلف بر مورفومتری ایلئوم جوجه‌های گوشتی در ۴۲روزگی

تیمارها	طول ویلی (میکرومتر)	عرض ویلی (میکرومتر)	شاخص پرز (میکرومتر/میکرومتر)	سطح پرز (میکرومتر/میکرومتر)
شاهد	۱۳۹۵/۰۰^{a}	۱۶۵/۰۰^{ab}	۸/۵۵^{a}	۰/۲۲^{a}
شاهد منفی	۶۸۲/۵۰^{e}	۱۶۲/۵۰^{ab}	۴/۲۴^{b}	۰/۱۱^{c}
۰/۵ درصد زردهٔ ایمن	۱۲۰۰/۰۰^{bc}	۱۴۰/۰۰^{b}	۸/۶۶^{a}	۰/۱۶^{b}
۰/۵ درصد زردهٔ غیرایمن	۸۸۰/۰۰^{d}	۱۹۰/۰۰^{a}	۴/۶۵^{b}	۰/۱۶^{b}
۱ درصد زردهٔ ایمن	۱۲۸۵/۰۰^{ab}	۱۷۲/۵۰^{ab}	۷/۵۶^{a}	۰/۲۲^{a}
۱ درصد زردهٔ غیرایمن	۱۰۸۵/۰۰^{c}	۱۵۷/۵۰^{ab}	۶/۹۱^{a}	۰/۱۷^{b}
سطح معنی‌داری	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۹۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
خطای آزمایشی	۳۶/۰۵	۷/۹۲	۰/۴۶	۰/۰۰۹۵
انحراف‌معیار	۶/۶۲	۹/۶۳	۱۳/۷۲	۱۰/۷۳

a, b, c: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون، تفاوت معنی‌دار آماری دارند ($P\leq$ ۰/۰۵).



شکل ۲. آسیب‌شناسی بافتی کبد طیور تحت‌تأثیر تیمارهای مختلف: ۱) شاهد مثبت (بدون هیچ افزودنی)؛ ۲) جیرهٔ حاوی یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 (تیمار شاهد منفی)؛ ۳) شاهد منفی + ۰/۵ درصد حجمی زردهٔ ایمن؛ ۴) شاهد منفی + ۰/۵ درصد حجمی زردهٔ غیرایمن؛ ۵) شاهد منفی + یک درصد حجمی زردهٔ ایمن؛ ۶) شاهد منفی + ۰/۵ درصد حجمی زردهٔ غیرایمن. (نواحی مشخص‌شده با پیکان نشان‌دهندهٔ تخریب وسیع و ایجاد حفره‌های سیتوپلاسمی در هپاتوسیت‌ها است).

بحث

اندازه‌گیری تغییرات بیوشیمیایی سرم خون و فعالیت آنزیم‌ها می‌تواند به تشخیص موارد آفلاتوکسیکوزیس، قبل از ظهور علائم بالینی کمک کند (۱۸). در تحقیق حاضر تغذیهٔ جوجه‌ها با تیمار شاهد منفی موجب افزایش غلظت سرمی کلسترول و LDL و کاهش غلظت سرمی پروتئین تام و آلبومین شد. هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعهٔ Hedayati و همکاران نیز عنوان شد که در جوجه‌های دریافت‌کنندهٔ سم آفلاتوکسین، میزان کلسترول افزایش یافته است (۱۹). کلسترول یکی از استرول‌های اصلی موجود در همهٔ بافت‌ها بوده که در هپاتوسیت‌ها بیوسنتز می‌شود. مکانیسم دقیق این افزایش به‌وضوح درک نمی‌شود؛ اما این امر ممکن است به‌دلیل نفوذ چربی و دژنراسیون هپاتوسیت‌ها طی آفلاتوکسیکوز باشد (۲۰). در جوجه‌هایی که آب آشامیدنی آنها حاوی یک درصد IgY علیه آفلاتوکسین B_1 است، مقدار کلسترول خون در مقایسه با تیمار شاهد منفی کاهش یافته است. در تیمارهای دریافت‌کنندهٔ آب حاوی زردهٔ تخم‌مرغ غیرایمن نیز کاهش در مقدار غلظت سرمی کلسترول مشاهده شد که کاهش اثرات سم از سوی زردهٔ غیرایمن را با توجه به اجزای سازندهٔ آن می‌توان به واکنش اجزای پروتئینی و تا حدی کربوهیدرات موجود در زرده نسبت داد (۲۱).

آفلاتوکسین، RNA پلی‌مراز وابسته به DNA را مهار می‌کند و موجب اختلال در عملکرد DNA هسته‌ای می‌شود که به مهار کلی تولید پروتئین منتج می‌شود (۲). علاوه بر اینها میزان فعالیت برخی آنزیم‌ها از جمله آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز که برای ترانس‌آمیناسیون اسیدهای آمینه لازم است، در کبد افزایش یافت. این موارد حاکی از این است که مصرف پروتئین یا اسیدهای آمینه در پروسهٔ گلوکونئوژنز در موقع آفلاتوکسیکوزیس افزایش می‌یابد (۲۲). در این تحقیق کاهش غلظت پروتئین تام خون در جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی آفلاتوکسین، نشان‌گر اختلال سنتز پروتئین در کبد است (۲۳). براساس گزارش‌های Malekinejad و همکاران (۲۴) که تأثیر سطوح مختلف بنتونیت سدیم و خارمریم را در جوجه‌های گوشتی چالش‌یافته با آفلاتوکسین B_1 مورد بررسی قرار دادند، تیمار شاهد منفی موجب افزایش معنی‌دار تری‌گلیسرید، کلسترول و کاهش پروتئین تام در مقایسه با تیمار شاهد مثبت شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. افزودن زردهٔ ایمن به آب آشامیدنی (تیمارهای ۳ و ۵) تأثیر سم بر تغییر متابولیت‌های سرم را مهار کرد که می‌تواند به‌علت جذب سم از طریق پادتن موجود در زردهٔ ایمن باشد (۲۵).

ارتفاع ویلی و نسبت ارتفاع به عمق کریپت در ناحیهٔ ایلئوم جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با آفلاتوکسین نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. در یک بررسی دیگر ارزیابی گلوکومانان اصلاح‌شده (Mycosorb) و آلومینوسیلیکات هیدراته برای کاهش سمیت آفلاتوکسین و توکسین T-2 در جوجه‌های گوشتی بررسی و بیان شد. ارتفاع ویلی در آلودگی به آفلاتوکسین کاهش یافت که با نتایج مطالعهٔ حاضر مطابقت دارد (۲۶). این مشاهدات می‌تواند تحت‌تأثیر تودهٔ میکروفلور روده باشد که آفلاتوکسین اثرات منفی بر سطح قابل‌جذب روده می‌گذارد. ویلی‌های کوتاه‌تر و نازک‌تر در جوجه‌های تغذیه‌شده با آفلاتوکسین در نتیجهٔ اختلال در سنتز پروتئین (۲۷) و کاهش تکثیر سلولی اپیتلیال است (۲۸). در جوجه‌های دریافت‌کنندهٔ زردهٔ ایمن (تیمارهای ۳ و ۵) پروتئین‌های محافظت‌کنندهٔ خانوادهٔ BCL2 می‌توانند مانع نفوذپذیری میتوکندری و انتشار پروتئین آپوپتوزین از میتوکندی شده و درنهایت مانع آپوپتوز یا نکروز شود (۲۹). در مقابل پروتئین‌های پروآپوپتیک از قبیل BAX می‌توانند با تخریب میتوکندری منجر به آپوپتوزیس یا نکروز شوند (۲۹). آفلاتوکسین‌ها موجب مهار بیان BCL2 و محرک بیان پروتئین‌های BAX هستند (۳۰). ایمنوگلوبولین اختصاصی زردهٔ تخم‌مرغ با مهار بیان BAX و افزایش بیان پروتئین‌های محافظت‌کنندهٔ BCL2 اثرات مخرب آفلاتوکسین را بر میتوکندری کاهش می‌دهد (۲۵). نتایج تحقیق حاضر با مطالعات Awad و همکاران و Wu و همکاران که اثرات مضر مایکوتوکسین‌ها بر موفورلوژی روده را نشان دادند، مطابقت دارد (۳۲-۳۱).

متابولیت‌های سمی آفلاتوکسین به اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوپروتئین‌ها که برای زنده‌ماندن سلول‌ها حیاتی هستند، متصل شده و سبب تولید زیاد لیپید کبدی، بزرگ‌شدن کبد، تکثیر مجاری صفراوی، نکروزیس یا مرگ سلولی و سرطان سلول‌های کبدی می‌شود (۳۳). در این مطالعه مکمل‌سازی جیره‌های آلوده‌شده با یک ppb سم آفلاتوکسین و غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد ایمنوگلوبولین Y، توانایی بالای این ایمنوگلوبولین را در جذب سم و کاهش اثرات آن بر بافت کبد طیور دریافت‌کنندهٔ این جیره‌ها نشان داد. هرچند که در بررسی پاتولوژیک کبد تأثیرات خفیف بر سلول‌های کبدی، نفوذ سلول‌های مونونوکلئار و هایپرپلازی خفیف صفراوی قابل‌مشاهده است.

مطالعات نشان داده است که سطح پروتئین caspase-3 در حضور غلظت بالای ایمنوگلوبولین اختصاصی زردۀ تخم‌مرغ، به میزان قابل‌توجهی کاهش می‌یابد که می‌تواند نشان‌دهندۀ کاهش سمیت سلولی ناشی آفلاتوکسین در حضور ایمنوگلوبولین اختصاصی زردۀ تخم‌مرغ (IgY) باشد (۲۵). ازاین‌رو ایمنوگلوبولین زردۀ تخم‌مرغ توانسته به‌خوبی آثار مسمومیت و سیروز کبدی را کاهش دهد.

در این مطالعه نشان داده شد که استفادۀ خوراکی از ایمنوگلوبولین اختصاصی زردۀ تخم‌مرغ می‌تواند میزان عوارض ناشی از آفلاتوکسیکوز براساس شاخص‌های مرتبط با بیوشیمی خون، مورفومتری ایلئوم و هیستوپاتولوژی کبد را کاهش داد. براساس نتایج این مطالعه، تأثیرگذاری زرده در تخم‌مرغ‌های ایمن شده نسبت به تخم‌مرغ‌های غیرایمن بیشتر است، پس می‌توان ایمنوگلوبولین اختصاصی زردۀ تخم‌مرغ علیه آفلاتوکسین B_1 را برای توسعۀ آنتی‌بادی‌ها به‌عنوان عوامل سم‌زدایی پیشنهاد داد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامۀ دکتری تخصصی رشتۀ تغذیۀ طیور دانشگاه بیرجند است که در تاریخ ۹۴/۴/۳۰ به تصویب رسیده است. نویسندگان از تمام کسانی که در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری رسانده‌اند، قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Edrington T, Kubena L, Harvey R, Rottinghaus G. Influence of a superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T-2 toxin in growing broilers. Poult Sci. 1997;76(9):1205-11. https://doi.org/10.1093/ps/76.9.1205 PMID:9276881
2. Kececi T, Oguz H, Kurtoglu V, Demet O. Effects of polyvinylpolypyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. Br Poult Sci. 1998;39(3):452-8. https://doi.org/10.1080/00071669889051 PMID:9693831
3. Harvey R, Kubena L, Elissalde M, Phillips T. Efficacy of zeolitic ore compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler chickens. Avian Dis. 1993;37(1):67-73. https://doi.org/10.2307/1591459 PMID:8383962
4. Teniola OD, Addo PA, Brost IM, Färber P, Jany KD, Alberts JF, et al. Degradation of aflatoxin B1 by cell-free extracts of Rhodococcus erythropolis and Mycobacterium fluoranthenivorans sp. nov. DSM44556T. Int J Food Microbiol. 2005;105(2):111-7. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.05.004 PMID:16061299
5. Klemperer F. Ueber natürliche Immunität und ihre Verwerthung für die Immunisirungstherapie. Arch Exp Pathol Pharmakol. 1893;31(4-5):356-82. https://link.springer.com/article/10.1007/BF01832882
6. Leslie GA, Martin LN. Studies on the Secretory Immunologic System of Fowl: III. Serum and Secretory IgA of the Chicken. J Immunol. 1973;110(1):1-9. PMID:4631071
7. Tesar DB, Cheung EJ, Bjorkman PJ. The chicken yolk sac IgY receptor, a mammalian mannose receptor family member, transcytoses IgY across polarized epithelial cells. Mol Biol Cell. 2008;19(4):1587-93. https://doi.org/10.1091/mbc.e07-09-0972 PMID:18256279 PMCID:PMC2291411
8. Rose ME, Orlans E, Buttress N. Immunoglobulin classes in the hen's egg: their segregation in yolk and white. Eur J Immunol. 1974;4(7):521-3. https://doi.org/10.1002/eji.1830040715 PMID:4213170
9. Chalghoumi R, Beckers Y, Portetelle D, Théwis A. hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a reviewe. Biotechnol Agron Soc Environ. 2009;13(2):295-308. http://www.pressesagro.be/base/text/v13n2/295.pdf
10. Rahimi S, Shiraz ZM, Salehi TZ, Torshizi MAK, Grimes JL. Prevention of Salmonella infection in poultry by specific egg-derived antibody. Int J Poult Sci. 2007;6(4):230-5. https://doi.org/10.3923/ijps.2007.230.235
11. Lee E, Sunwoo H, Menninen K, Sim J. In vitro studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium. Poult Sci. 2002;81(5):632-41. https://doi.org/10.1093/ps/81.5.632 PMID:12033412
12. Tsukamoto M, Hiroi S, Adachi K, Kato H, Inai M, Konishi I, et al. Antibodies against swine influenza virus neutralize the pandemic influenza virus A/H1N1. Mol Med Rep. 2011;4(2):209-14. https://doi.org/10.3892/mmr.2011.410 PMID:21468553
13. Shotwell OL, Hesseltine C, Stubblefield R, Sorenson W. Production of aflatoxin on rice. Appl Microbiol. 1966;14(3):425-8. PMID:5970829
14. Fulton R, Nersessian B, Reed W. Prevention of Salmonella enteritidis infection in commercial ducklings by oral chicken egg-derived antibody alone or in combination with probiotics. Poult Sci. 2002;81(1):34-

40. https://doi.org/10.1093/ps/81.1.34 PMID:11885897

15. Bancroft J, Marilyn G. Theory and practice of histological techniques. 5nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2002.

16. Sakamoto K, Hirose H, Onizuka A, Hayashi M, Futamura N, Kawamura Y, et al. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. J Surg Res. 2000;94(2):99-106. https://doi.org/10.1006/jsre.2000.5937 PMID:11104649

17. Institute S. SAS/GRAPH 9.1 Reference. Jakarta: SAS institute; 2004.

18. Oguz H, Parlat S. Effects of dietary mannanoligosaccharide on performance of Japanese quail affected by aflatoxicosis. S Afr J Anim Sci. 2004;34(3):144-8. http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v34i3.3957

19. Hedayati M, Manafi M, Yari M, Mousavipour S. Commercial broilers exposed to aflatoxin b 1: Efficacy of a commercial mycotoxin binder on internal organ weights, biochemical traits and mortality. Int J Agric For. 2014;4(5):351-8.

20. Jha A, Shah K, Verma RJ. Aflatoxin-induced biochemical changes in liver of mice and its mitigation by black tea extract. Acta Pol Pharm. 2012;69(5):851-7. PMID:23061280

21. Mine Y. Egg bioscience and biotechnology. New Jersey: John Wiley & Sons; 2007.

https://doi.org/10.1002/9780470181249

22. van Rensburg CJ, Van Rensburg C, Van Ryssen J, Casey N, Rottinghaus G. In vitro and in vivo assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. Poult Sci. 2006;85(9):1576-83. https://doi.org/10.1093/ps/85.9.1576 PMID:16977843

23. Tung H, Wyatt R, Thaxton P, Hamilton P. Concentrations of serum proteins during aflatoxicosis. Toxicol Appl Pharmacol. 1975;34(2):320-6. https://doi.org/10.1016/0041-008X(75)90038-1 PMID:1209630

24. Malekinejad P, Afzali N, Mohammadi A, Sarir H. Protective effects of milk thistle (silybum marianum) seeds and sodium bentonite in ameliorating the toxic effects of aflatoxin b1 in broiler chicks. Arch Med Lab Sci. 2015;1(2):67-73. http://dx.doi.org/10.22037/amls.v1i2.10292

25. Qiu T, Shen X, Tian Z, Huang R, Li X, Wang J, et al. IgY reduces AFB1-induced cytotoxicity, cellular dysfunction, and genotoxicity in human L-02 hepatocytes and Swan 71 trophoblasts. J Agric Food Chem. 2018;66(6):1543-50. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05385 PMID:29325416

26. Girish C, Devegowda G, editors. Evaluation of modified glucomannan (Mycosorb) and hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the individual and combined toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. Proceedings of the 16th Australian Poultry Science Symposium; 2004 Feb 9-11; Sydney, New South Wales, Australia: Poultry Research Foundation; 2004. p.126-9. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20063231556

27. Awad WA, Böhm J, Razzazi-Fazeli E, Ghareeb K, Zentek J. Effect of Addition of a Probiotic Microorganism to Broiler Diets Contaminated with Deoxynivalenol on Performance and Histological Alterations of Intestinal Villi of Broiler Chickens. Poult Sci. 2006;85(6):974-9. https://doi.org/10.1093/ps/85.6.974 PMID:16776464

28. Fleming S, Youngman L, Ames B. Intestinal cell proliferation is influenced by intakes of protein and energy, aflatoxin, and Whole-body radiation. Nutr Cancer. 1994;22(1):11-30. https://doi.org/10.1080/01635589409514328 PMID:11304907

29. Cory S, Huang DC, Adams JM. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. Oncogene. 2003;22(53):8590-608. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207102 PMID:14634621

30. Yang X-J, Lu H-Y, Li Z-Y, Bian Q, Qiu L-L, Li Z, et al. Cytochrome P450 2A13 mediates aflatoxin B1-induced cytotoxicity and apoptosis in human bronchial epithelial cells. Toxicol. 2012;300(3):138-48. https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.06.010 PMID:22743290

31. Awad W, Ghareeb K, Bohm J, Razzazi E, Hellweg P, Zentek J. The impact of the Fusarium toxin deoxynivalenol (DON) on poultry. Int J Poult Sci. 2008;7(9):827-42. https://doi.org/10.3923/ijps.2008.827.842

32. Wu L, Liao P, He L, Ren W, Yin J, Duan J, et al. Growth performance, serum biochemical profile, jejunal morphology, and the expression of nutrients transporter genes in deoxynivalenol (DON)-challenged growing pigs. BMC Vet Res. 2015;11(1):144. https://doi.org/10.1186/s12917-015-0449-y PMID:26138080 PMCID:PMC4490653

33. Bammler TK, Slone DH, Eaton DL. Effects of dietary oltipraz and ethoxyquin on aflatoxin B1 biotransformation in non-human primates. Toxicol Sci. 2000;54(1):30-41. https://doi.org/10.1093/toxsci/54.1.30 PMID:10746929