



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

**تلوث أعلاف فروج اللحم بسموم الافلا (AFB1)
والفيومونيسين (FB1) وتأثيرهما في كيموحيوية الدم ومستوى
الأضداد لمرض نيوكاسل**

رفيف قاسم علي عباس

رسالة ماجستير
الطب البيطري/ الصحة العامة البيطرية

بإشراف
الاستاذ الدكتور

عقيل محمد شريف خضر

الخلاصة

Abstract

السموم الفطرية هي مجموعة من المنيضات الثانوية secondary metabolites تنتجها الأعفان السامة. وتعد سموم الافلا Aflatoxins (AF) وسموم الفيومونيسين Fumonisin (F) بعضاً من مجاميع السموم الفطرية الملوثة لعلائق الدواجن. تم اجراء دراسة لتلوث علائق فروج اللحم بهذين السمين وتأثيرهما في كيموحيوية الدم ومعايير الأضداد لمرض نيوكاسل.

جمعت (60) عينة ممثلة من علائق فروج اللحم الاصبعية peletted feed من (15) قاعة لخمس مناطق مختلفة في محافظة نينوى (ثلاث قاعات لكل منطقة)، والمناطق هي : كوكجلي والحمدانية وبرطلة والرشيديّة والعباسية وبواقع (4) عينات من كل قاعة (1 كغم /عينة). كانت فترة جمع العينات من شهر كانون الثاني الى شهر آذار 2014. أخذ (100) غم من كل عينة وقسمت كل عينة عليقة الى قسمين الاولى لفحص الأعفان والثانية للكشف عن سموم الافلا Aflatoxin B1 (AFB1) وسموم الفيومونيسين Fumonisin B1 (FB1) الملوثة لهذه العلائق. تم عزل الأعفان وتحديد السموم لعلائق فروج اللحم في مختبر فرع الصحة العامة البيطرية /كلية الطب البيطري/جامعة الموصل .

استخدمت طريقة النشر السطحي (Surface spread method) لحساب التلوث بالأعفان وايجاد العد الكلي لها (وحدة مكونة للمستعمرة/غم عليقة) (g-1/CFU) باستخدام وسط السابرو-دكستروز Sabouraud dextrose agar (SDA) وبثلاث مكررات وبالتخفيف (10^{-2} - 10^{-5})، اذ تم حساب العد الكلي لأجناس الأعفان على أساس الفحص العيني والمجهري كما واستخدم ، وسطي نقيع الشعير Malt Extract Agar (MEA) ووسط البطاطا- دكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) لتحديد جنس الأعفان ومن ثم تسجيل المدى والمتوسط والنسبة المئوية لأجناسها.

أستخدمت تقنية الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم (Enzyme-linked immunosorbent assay) (ELISA) في تحديد مستويات سم AFB1 و FB1 في عينات العلائق.

جمعت عينات دم افراخ فروج اللحم بعمر (42) يوماً من اربعة قاعات (15 طائر/قاعة) مختارة ذوات تلوث لعلائقها بالسمين AFB1 و FB1 وبمستويات مختلفة. قسمت عينات الدم الى جزئين احدهما لفحص بعض المعايير الكيموحيوية والآخر للكشف عن معايير اضداد مرض نيوكاسل.

شملت الفحوصات الكيموحيوية لمصل دم الافراخ مستويات كل من الكلوكوز Glucose (Glu) والبروتين الكلي Total protein (TP) و الكليسيريدات الثلاثية Triglycerides (Tri) والكرياتنين Creatinine (C) والكوليسترول Cholestrol (chol) وأنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alanine (AP) Alkaline phosphatase وأنزيمي الكبد الانين امينوترانسفيريز Alanine

Aspartate aminotransferase (ALT) و الاسبارتيت امينوترانسفيريز Spectrophotometer (AST) باستخدام جهاز المطياف الضوئي وعدد خاصة بكل فحص. تم قياس معايير أضرار مرض نيوكاسل باستخدام اختبار ELISA وعدة خاصة به كما وتم حساب معامل التلقيح (Vaccination Index (VI).

أوضحت نتائج التلوث بالأعفان ان هناك (41) عينة موجبة من مجموع (60) عينة للعلائق (68.33%) وان معدل اعدادها الكلية تراوح بين $(2.8 \times 10^3 - 5.3 \times 10^2)$ CFUg-1 (2.450 - 2.725 لوغار يتم 10). حدد (11) جنس للأعفان وابعاد تنازلية (من الاعلى الى الادنى) كالاتي: (*Cladosporium spp.*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Chetomium spp.*, *Curvularia spp.*, *Sterile mycelia spp.*, *Acremonium spp.*, *Achetomium spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp*

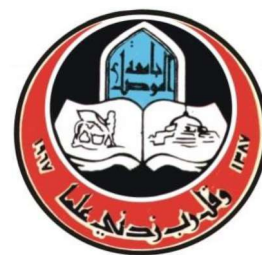
أما نتائج التلوث بالسموم الفطرية فقد وجد أن هناك (18) عينة موجبة لتواجد سم الافلا (AFB1) من بين (60) عينة للعلائق أي بنسبة (29.99%) وإن معدل مستوى السم في العينات الموجبة بلغ (5.57) مايكروغرام/كغم عليقة وفي العينات الكلية (2.27) مايكروغرام/كغم عليقة وإن أعلى قيمة لسم AFB1 بلغ (44.40) مايكروغرام/كغم عليقة. وبالاعتماد على لوائح إدارة الأغذية والعقاقير (Food and Drug Administration (FDA فإن (91.66%) من العينات الموجبة ذات مستوى تلوث أقل من الحد المسموح به وهو (20) مايكروغرام/كغم عليقة وإن (8.33%) فقط من العينات كان ملوثا بمستويات متوسطة اي مابين (20 الى 50) مايكروغرام/كغم عليقة ولم تسجل مستويات أعلى من (50) مايكروغرام سم الافلا /كغم عليقة.

أوضحت فحوصات التلوث بسم FB1 فقد وجد أن من بين (50) عينة من مجموع 60 عينة عليقة كانت (83.33%) منها حاوية على سم FB1 وبمعدل (337) مايكروغرام/كغم عليقة للعينات الموجبة و(286) مايكروغرام/كغم للعينات الكلية، وإن أعلى قيمة لسم FB1 بلغ 1200 مايكروغرام/كغم عليقة إلا أن جميع العينات الموجبة كانت ذا مستوى تلوث بسم FB1 أقل بكثير من الحد المسموح به وهو (50) ملغم/كغم عليقة.

تراوحت نسبة تلوث علائق فروج اللحم الاصبعية بالسموم AFB1 و FB1 وفي المناطق الخمس لمحافظة نينوى (54.16% الى 66.66%) وبمعدل (56.66%) أوضحت فحوصات مصل الدم لأفراخ فروج اللحم انه لا توجد فروقات معنوية في جميع معايير مصل الدم بعمر (42) يوما.

كما ولم تكن هناك فروق معنوية في مستوى الأضرار لمرض نيوكاسل في مصول فروج اللحم بعمر (42) يوما حيث أن معايير الأضرار قد تراوحت بين (9100.33 و 10608.26) (3.959 و 4.025 لوغار تم 10) وكذلك بين معامل التلقيح (Vaccination index (VI) في مصول الأفراخ للحقول الأربعة اذ لم يتجاوز المعامل (300) وتراوح بين (178.63 و 282.3).

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



**THE CONTAMINATION OF AFLATOXIN
(AFB1) AND FUMONISIN (FB1) IN BROILER
FEED AND THEIR EFFECTS ON THE
BLOOD BIOCHEMICALS AND
NEWCASTLE DISEASE ANTIBODY TITERS**

Rafeef Qasim Ali Abbas

M.Sc./Thesis

Veterinary Medicine/ Veterinary Public Health

Supervised By

Professor

Dr.Akeel Mohammed Shareef Khther

SUMMARY

Mycotoxins are a large group of toxic mold secondary metabolites. The most important and widely spread mycotoxins which contaminate poultry, are aflatoxins and fumonisins. A trial was conducted to study the contamination of broiler feeds with these mycotoxins with their subsequent effects on some of blood biochemical parameters and Newcastle antibody titers.

Sixty broiler pelleted feed samples were collected from (15) broiler houses. These houses were located at different areas in Ninevah governorate (Kokjaly, Al-Hamdania, Bartila, Al-Rashidia and Al-Abasia). Three broiler houses were randomly chosen in each location for feed sampling. Four feed samples weighing 1 kg were collected from each broiler houses from January to March 2014. Each feed sample was thoroughly mixed, then (100) gm of feed was taken and was sub-divided into two parts (50 gm each). One part was used for mycological examination and the other was used for detection of natural contaminations. *i.e.* Aflatoxin B1 (AFB1) and Fumonisin B1 (FB1). mycotoxin

The mycological study and mycotoxins analyses were done at the department of Veterinary public health, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq. The total mold counting method in the pelleted feed samples (CFUg⁻¹) was done applying serial dilutions (10⁻² to 10⁻⁵). Surface spread method on Sabouraud's dextrose agar was used for culturing the moulds. Two other agars viz., potato dextrose agar and malt extract agar were also used for mold description and identification. Range, mean and percentage of the recovered molds were later recorded in special list.

Enzyme Linked –Immunesorbent Assay was used for the detection of both AFB1 and FB1 using corresponding ELISA kits.

Blood samples were collected at (42) nd days from the chosen chicks of the four broiler houses (15 birds /house) fed ration contaminated with ascending levels of both mycotoxins (AFB1 and FB1). Sera obtained from blood samples were subdivided into two parts, one for analysis of some blood biochemical parameters and the other for estimation of Newcastle antibody titers. Levels of Glucose (Glu), Total serum protein (TP), Triglycerides(Tri), Creatinine (Cr), Cholesterol(Chol) , Alkaline phosphatase (AP), Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT) were spectrophotometrically estimated using corresponding kits.

Newcastle (ND) antibody titers were calculated using corresponding ELISA kit. Vaccination index (VI) was also calculated.

Results showed that out of (60) pelleted broiler feed samples, (41) were positive for mold contamination (68,33%). These molds were ranged between 5.3×10^2 - 2.8×10^3 (CFUg⁻¹) ($\log_{10}$ 2.725- $\log_{10}$ 2.450). Eleven genera of mold were identified. The numbers from the most predominant to the least one were as follows: *Cladosporium spp.*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* , *Penicillium spp.*, *Chaetomium spp.*, *Curvularia spp.*, *Sterile mycelia spp.*, *Acremonium spp.*, *Achetomium spp.*, *Mucor spp.*, and *Rhizopus spp.*

Aflatoxin B1 (AFB1) was detected from (18) samples out of (60) feed samples (29.99%) with a total mean of $(2.27 \pm 5) \mu\text{g/kg}$, and $(5.57 \pm 15.70) \mu\text{g/kg}$. for positive samples and $(44.40) \mu\text{g/kg}$ as the highest. Considering FDA regulations, (91.66%) of the positive AFB1 feed samples had permissible values ($20 \mu\text{g/kg}$), and the other 8.33% were

within the middle levels (20-50 $\mu\text{g/kg}$) , while no AFB1 value exceeded (50) $\mu\text{g/kg}$.

In case of FB1, it was found that 50 samples out of (60) broiler feed samples were positive (83.33%), with a total mean of $(69.68 \pm 286.5) \mu\text{g/kg}$ and a mean of positives $(56.69 \pm 337.0) \mu\text{g/kg}$. The highest FB1 value was (1200) $\mu\text{g/kg}$. Considering FDA regulations all of the pelleted broiler feed samples contained less than the permissible values of FB1 which (50 mg/kg feed).

The percentage of broiler feed contaminated with both toxins (AFB1 and FB1) in the five locations of Ninavah governorate ranged from 54.16% to 66.66% (mean 56.66%).

The findings of the aforementioned biochemical tests carried on sera obtained from broilers fed rations naturally contaminated with mycotoxins at 42 nd days of age revealed no significant differences ($p < 0.05$) as compared with standard values.

The values of Log_{10} Newcastle antibody titers at the 42nd days of age in the four broiler jars were ranged between (3.959) and (4.025), while vaccination index did not exceed (300) and was ranged between (178.63) and (282.3). without significant variation ($p < 0.05$) all Ab titer values showed no significant differences in all parameter titer tested between the checked broilers.