

DIPLOMADOLGOZAT

Plank Patrik

2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Élettani és Takarmányozástani Intézet

**Takarmányozási és takarmánybiztonsági mérnök
mesterképzési szak**

**Ochratoxinnal szennyezett takarmányok etetésének hatása
brojlercsirkék klinikai biokémiai paramétereire**

**Belső konzulens: Dr. Balogh Krisztián Milán
egyetemi docens**

**Élettani és Takarmányozástani Intézet,
Takarmánybiztonsági Tanszék**

Készítette: Plank Patrik

Gödöllő

2023

Tartalom jegyzék

1. Bevezetés	4
2. Szakirodalmi áttekintés	6
2.1. Mikotoxinok	6
2.2. Mikotoxint termelő penészgombák csoportosítása	7
2.3. Mikotoxinok hatása a gazdasági állatokra	10
2.4. Az ochratoxin	12
2.5. Az ochratoxin hatása a baromfikra.....	15
2.6. Mikotoxinok mentesítésének lehetőségei	18
3. Anyag és módszer	20
3.1. Összfehérje koncentráció	21
3.2. Az albumin koncentráció meghatározása.....	21
3.3. A globulin koncentráció meghatározása	21
3.4. A karbamid koncentráció meghatározása	22
3.5. A húgysav koncentráció meghatározása	22
3.6. A glükóz koncentráció meghatározása.....	22
3.7. A koleszterin koncentráció meghatározása	22
3.8. A triglicerid koncentráció meghatározása.....	23
3.9. A kalcium koncentráció meghatározása.....	23
3.10. Az anorganikus foszfor koncentráció meghatározása.....	23
3.11. Az alanin-aminotranszferáz (ALT) aktivitás meghatározása.....	23
3.12. Az aszpartát-aminotranszferáz (AST) aktivitás meghatározása.....	24
3.13. A gamma-glutamiltanszferáz (GGT) aktivitásának meghatározása	24
3.14. A laktát-dehidrogenáz (LDH) aktivitásának meghatározása.....	24

4. Eredmények és értékelésük	25
5. Következtetések és javaslatok	43
6. Összefoglalás.....	46
7. Irodalomjegyzék.....	49

1. Bevezetés

Gyakorlatilag minden takarmányfélésegen megtelepednek penészek, gombák, amelyek anyagcsere termékeiként olyan toxikus anyagokat termelnek, amilyenek más élőlényekre mérgező hatásúak. Rendszerint igen kicsi mennyiség is elegendő, hogy jellegzetes tünetek megjelenjenek (Kállai 1978). A természetes toxinok, így a mikotoxinok is a termelési és a tárolási folyamatok során keletkeznek. A szervezetbe jutva ezek a toxinok felhalmozódhatnak, átalakulhatnak, egymással kölcsönhatásba is léphetnek, ezzel megváltoztatva a normális életműködéseket, kórfolyamatokat indíthatnak (Banczerowski & Világi 2010). Az elmúlt évtizedekben jelentősen megnőtt annak a valószínűsége, hogy a környezetből származó káros behatások megzavarják az élő szervezetben a biológiai folyamatokat (Kovács 2010).

A mikotoxikózisok olyan betegségek, amelyeket a gombák által termelt mikotoxinok idéznek elő rövid vagy hosszú távon. Egyre nagyobb jelentőséggel bírnak az egész világon. Szerepet játszik ebben, hogy az intenzíven termesztett gazdasági növényeink bizonyos szinten érzékenyebbek egyes gombás megbetegedéssel szemben, illetve megváltozott a takarmány előállítási technológia. A mikotoxinoknak viszonylag alacsony koncentráció képes kedvezőtlenül hatni az immunrendszer működésére, amely következtében a fakultatív patogén kórokozók teret kapnak a szervezetben. Jelentőségük így nem csak az állatokban okozott kár miatt magas, hanem ezek mellett a közegészségügyi kockázatuk is megnő (Várnagy 2002; Sugár 2007). A mikotoxinok állategészségügyi hatásának szakirodalma elég kiterjedt. Legtöbb esetben a hatások jól ismertek, és a hatásmechanizmus is feltárt. A takarmány szennyezettségétől függően az adott toxinra jellemző klinikai tünetek fognak kialakulni, amely az élő szervezetek pusztulásához vezethetnek. A toxinok mennyiségétől és a hatásmechanizmusától függően az adott toxinra jellemző klinikai és kortani tünetek fognak megjelenni az egyedeken (Babinszky & Halas 2019).

A diplomadolgozatomban ismertetett állatkísérlet célja az volt, hogy felmérje az Európai Unió által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket meghaladó ochratoxin koncentrációjú, illetve az ochratoxin terhelés mérséklése érdekében mikotoxinkötő anyaggal kiegészített, valamint biológiai detoxifikáláson átesett, alacsonyabb ochratoxin koncentrációjú takarmány etetése milyen hatást gyakorol brojlercsirkék vérplazmájában mért különböző klinikai biokémiai paramétereire (összfehérje, albumin, globulin, húgysav, karbamid, Ca, P koncentrációra, illetve egyes májeredetű enzimek (ALT, AST, GGT) aktivitására).

Az elvégzett vizsgálat keretében az alkalmazott toxinkötő és biológiai detoxifikálási eljárás eredményessége is vizsgálható volt.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Mikotoxinok

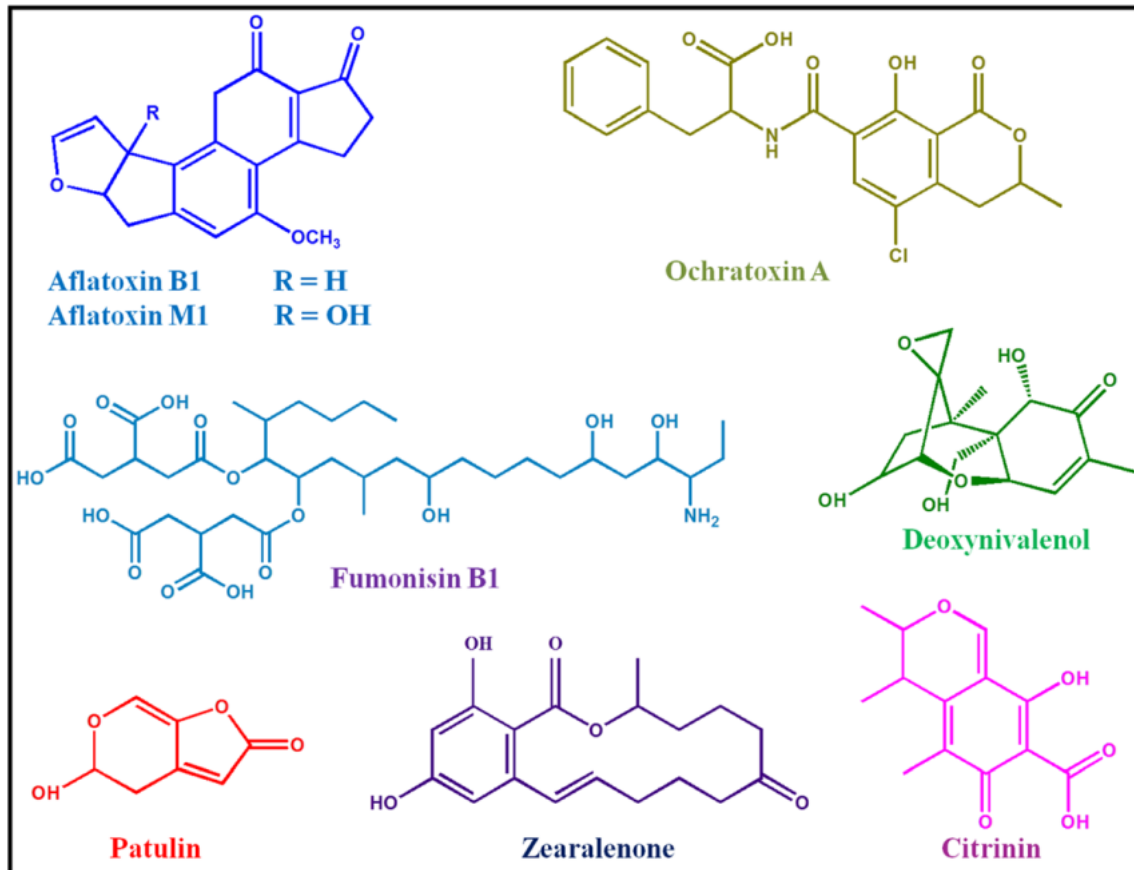
Gyakorlatilag minden takarmányféleségen megtelepednek penészek, gombák, amelyek anyagcsere termékeiként olyan toxikus anyagokat termelnek, amilyenek más élőlényekre mérgező hatásúak. Rendszerint igen kicsi mennyiség is elegendő, hogy jellegzetes tünetek megjelenjenek (Kállai 1978). A mikotoxinok a penészgombák másodlagos anyagcsere-termékei. Ezek az anyagok a primer anyagcsere termékekhez képest kémiai értelemben bonyolultabbak, biológiai aktivitással rendelkeznek, és kiválasztódnak a környezetbe. A gombák szaporodásuk során elérnek egy olyan fázist, mikor a képződés és a pusztulás egyensúlyba kerül. Ilyenkor áttérnek az elsődleges anyagcsere-termékek képzéséről a másodlagos anyagcsere-termékek képzésére, amelynek során mikotoxinok keletkeznek (Babinszky & Halas 2019). A mikotoxinok alacsony molekulatömegű vegyületek. Jelenleg több mint 500 féle mikotoxin ismert, melyek közül a legfontosabbak (1. ábra) (Köppen et al. 2010):

- Aflatoxin B1, B2, G1, G2
- Ochratoxin (ochratoxin A, ochratoxin B, ochratoxin C)
- Fumonizin B1
- Zearalenon (α -zearalenol, β -zearalenol)
- Deoxinivalenol (DON)

A mikotoxinok eltérő kémiai szerkezetű- és élettani hatású anyagok. Legtöbbje igen stabil vegyület és a különböző környezeti hatásoknak is ellenállnak. E tulajdonságuknak köszönhető, hogy a takarmányok feldolgozása és tárolása közben általában hatékonyak maradnak (Kállai 1978). A mikotoxinok különböző kémiai szerkezetű vegyületek. Lehetnek zsírsav származékok (rubratoxin), fenolok (aflatoxin, szterigmatocisztin), sikimisav és mevalonsav származék (ochratoxin, T-2 toxin). Sok mikotoxin azonban nem egységes vegyület, hanem többféle, kémiaiilag csak kissé mérgező, hatásukban azonban erősen különböző formában fordulnak elő (Deák et al. 1980).

A gombák és metabolitjaik olyan nyersanyagokat szennyeznek, amelyeket általában emberi élelmiszerek és takarmányok készítéséhez használnak. A főbb érintett növények a gabonafélék (búza, árpa, kukorica), szárított gyümölcsök, diófélék, kávé és fűszerek. A szennyeződés előfordulhat a szántóföldön, a vegetációs idő során, vagy a nem megfelelő szállítási és tárolási

folyamatok eredményeként. A metabolitok jelenléte függ a környezeti tényezőktől, például a hőmérséklettől és a páratartalomtól (Binder 2007).



1.ábra A főbb mikotoxinok szerkezete (Malhorta et al. 2014)

A szervezetbe kerülő mikotoxinok jelentős hányada átalakul/metabolizálódik a bélbaktériumok és a máj enzim rendszerének köszönhetően. Ezen folyamatok során a szervezetbe kerülő toxinok toxicitásukat tekintve csökkenhetnek vagy meg is szűnhetnek, ugyanakkor a kiindulási anyagnál aktívabb, toxikusabb anyaggá is alakulhatnak (Kovács 2010).

2.2. Mikotoxint termelő penészgombák csoportosítása

A mikotoxinokat a penészgombák kedvezőtlen feltételek között történő szaporodás során szintetizálják. A szaporodáshoz szükséges feltételek alapján raktári és a szántóföldi penészeket (1. táblázat) különböztetünk meg (Szukács & Geösel 2019). A raktári penészek (1. táblázat) a nem megfelelő tárolástechnika következményeként szaporodhatnak el. Vízigényük alacsonyabb, mint a szántóföldi penészeké. Ide tartoznak a *Penicillium* és *Aspergillus* gombafajok, melyek a több szervrendszert is károsító, kiemelten toxikus aflatoxinokat, az ochratoxint, a citrinint, szterigmatocisztint, valamint a patulint termelik (Jávor & Szigeti 2011).

Az *Aspergillus flavus* már a szántóföldön képes megfertőzni egyes kukorica hibrideket így a nem megfelelő tárolás során csak még több toxin fog termelődni (Mesterházy 2002).

1.táblázat A penészgombák, az általuk termelt mikotoxinok és az általuk előidézett kórforma megnevezése (Várnagy 2002)

Szántóföldi penészgombák		Kórforma neve
<i>Fusarium</i> fajok		
toxinok	<ul style="list-style-type: none"> - zearalenon (F-2 toxin) - satratoxin^a; roridin^{a,b}; verrucarin^a - T-2 toxin; diacetoxiszcirpenol; deoxinivalenol; nivalenol 	fuzariotoxikózis
<i>Claviceps purpurea</i>		
toxinok	<ul style="list-style-type: none"> - ergot alkaloidák: - ergotoxin, ergotamin, ergometrinc; ergovalin^d; lolitrem A, B, C, D; fomopsin 	a= stachybotritoxikózis b= myrotheciotoxikózis c= anyarozsmérgezés d= csenkesz okozta nyári toxikózis
Raktári penészgombák		Kórforma neve
<i>Aspergillus</i> fajok		
toxinok	<ul style="list-style-type: none"> - aflatoxin - ochratoxin - citrinin 	aflatoxikózis ochratoxikózis citrinin okozta mikotoxikózis
<i>Penicillin</i> fajok		
toxinok	<ul style="list-style-type: none"> - patulin - rubratoxin - citrinin - ochratoxin 	patulin okozta mikotoxikózis rubratoxin okozta mikotoxikózis citrinin okozta mikotoxikózis ochratoxin okozta mikotoxikózis

A szántóföldi penészek a takarmánynövényeket és a növényi eredetű élelmiszereket az elsődleges termelés során fertőzik meg, a nem megfelelő agrotechnika, növényvédelem és

növénytáplálás következményeképp (Jávor & Szigeti 2011). A penészgombákat nem csak kártétel helye alapján lehet csoportosítani, hanem nedvesség- és oxigénigényük alapján is. Nedvességigény alapján megkülönböztethetünk higrofil (kifejezetten a nedvességet igénylő), mezofil (közepes nedvesség igényű) és xerofil (nagy nedvesség igényű) penészgombákat. Szaporodási képességük alapján is három csoportra oszthatók. Ez a három csoport az efemer gombák (gyorsan elvesztik szaporodó képességüket a tárolás során), mezobionta (kedvező nedveség tartalom mellett szaporodási képességüket megtartják a raktározás során), perzisztens fajok (szaporodóképességüket hosszú távon megtartják, így jelentős kártételt tudnak okozni) (Mézes 2023).

2. táblázat A leggyakoribb mikotoxinokat termelő penészgombák (Cserhádi 2013)

Penészgomba nemzetség	Penészgomba fajok	Mikotoxin(ok)
<i>Aspergillus</i>	<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>A. nominus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. versicolor</i>	aflatoxin-B1, B2, G1, G2 ochratoxin-A patulin ciklopiazonsav
<i>Fusarium</i>	<i>F. verticilloides</i> <i>F. moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. avenaceum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. poae</i> <i>F. equiseti</i> <i>F. acuminatum</i> <i>F. sambucinum</i> <i>F. sporotrichoides</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. sporotrichoides</i>	Fusarium B1, B2, B3 trichothecén vázasok: T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol, DON zearalenon
<i>Penicillium</i>	<i>P. verrucosum</i> <i>P. viridicatum</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. verrucosum</i> <i>P. roqueforti</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. camamberti</i> <i>P. expansum</i> <i>P. claviformae</i> <i>P. roqueforti</i>	ochratoxin-A citrinin roquefortin, PR toxin ciklopiazonsav patulin
<i>Stachybotrys</i>	<i>S. chartarum</i>	trichothecén vázasok
<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	alternariol, alternariol-metil-éter, altenuen, tenuazon-sav

Különböző tényezők befolyásolják mind a növekedést, mind a mikotoxinok termelését számos gombatípusban. Ezek a befolyásoló tényezők a hőmérséklet, a páratartalom, a környezet, a pH, a vízaktivitás (a_w), tápanyagok, az oltottság szintje, a szubsztrát természete, a fiziológiai állapot és a mikrobiális kölcsönhatások. Éppen ezért nehéz leírni fiziológias körülmények között a növekedés és a termelés optimális feltételeit. 10–40 °C hőmérséklet, 8,4 pH és 0,70 feletti a_w azok a körülmények, amelyek között a gombák általában fejlődnek. A szántóföldi gombáknak jellemzően 70–90%-os relatív páratartalomra, 20–25 °C-os hőmérsékletre van szükségük, $a_w > 0,85$ az aktív növekedéshez, és a_w az optimális növekedéshez 0,99 (Agriopoulou et al. 2020). Az aktív növekedés az a fázis, amikor a gomba nagy sebességgel növekszik a micéliumban. Ezzel ellentétben, a raktári penészek az alacsonyabb páratartalomhoz és magasabb hőmérsékletre alkalmazkodnak. A legtöbb *Aspergillus* és *Penicillium* faj (2. táblázat) legalább 0,75–0,85 a_w -t igényel, és jól fejlődik 0,93–0,98 a_w -nál. *Aspergillus* fajok aktív növekedéséhez 0,73 a_w szükséges, míg a *Penicillium* fajok legalább 0,78–0,80 a_w -t igényelnek (Rodrigues et al. 2012).

2.3. Mikotoxinok hatása a gazdasági állatokra

A mikotoxinok hatását befolyásolja a mikotoxin terhelés időtartama, a máj, mint detoxifikáló szerv működőképessége, valamint a szervezetben jelenlévő különböző mikotoxinok együttes, vagy egymásra gyakorolt hatása (Várnagy 2002). A jelenlegi kutatások azt mutatják, hogy az alacsony dózissal való kitettség nehezes megjósolható mellékhatásokkal jár. A megfigyelt változásokat az alkalmazott dózis és az expozíció időtartama befolyásolja. Az alacsony mikotoxin dózissal meglepő hatásokat válthatnak ki: például a szervezet nem képes kimutatni a nemkívánatos anyagokat, például a mikotoxinokat (Gajecka et al. 2022)

A szarvasmarhánál az ismert kórokozókön kívül a penészgombák toxinjai is képesek vetélést okozni. 1983-ban már 20 féle gombát tenyésztettek ki szarvasmarha magzatokból, és bizonyították a vetelésben játszott kóroktani szerepüket. A tenyésztett gomba fajok közül legtöbb esetben az *Aspergillus* és a *Mucor* nemzetség fajai fordultak elő (Horváth 1983).

Az aflatoxin iránti érzékenység állatfajonként eltérő (2. tábla). A hosszantartó aflatoxin bevitel mérsékli a takarmány felvételt és termeléses csökkenést idéz elő. Hatására a máj károsodik, csökken a vér A- és E-vitamin tartalma, fokozott lipidperoxidáció és immunválasz csökkenés lép fel. Számos más területen is kárt tud okozni: csökken az emésztőenzimek aktivitása, D-vitamin, vas-, foszfor- és rézanyagcsere zavarokat okoz (Babinszky & Halas 2019).

3. táblázat Az aflatoxin B1 akut toxicitása különböző állatfajoknál (Brydl 1986)

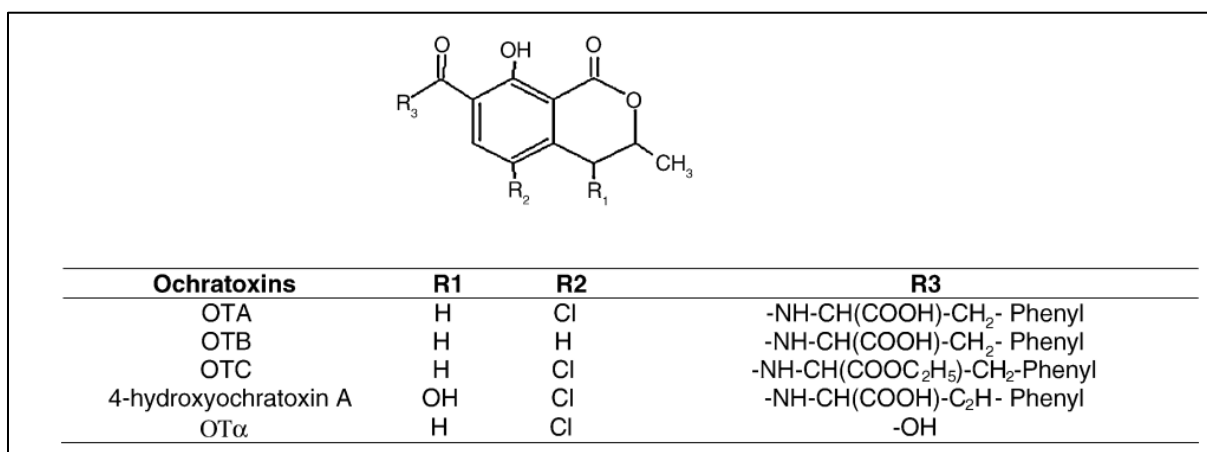
Állatfaj	LD ₅₀ mg/kg
Csirkeembrió	0,025
Kacsa	0,36
Nyúl	0,3
Macska	0,55
Sertés	0,62
Pisztráng	0,81
Kutya	0,5-1,0
Juh	1,0-2,0
Tengerimalac	1,4
Majom	2,2-7,8
Csirkeembrió	6,3
Patkány	7,2-16,2
Egér	9,2
Hörcsög	10,2

Sertéseknél megfigyelték, hogy zearalenon hatására a méh és a petefészek működése nem volt szinkronban (Várnagy 2002), jelentősen csökkentve a sertés állományok reprodukciós teljesítményét. A petefészek és a méh ciklusában kialakuló aszinkron működés hatására az ovuláció során kilökődő és termékenyülő petesejtek nem képesek beágyazódni a méh nyálkahártyájába, így elmarad a vemhesülés. Nagyobb toxin terhelés esetében a petefészek működése is károsodik, ciszták alakulnak ki a petefészekben, és le is állhat (Babinszky & Halas 2019).

A *Stachybotrys alternans* gomba által termelt toxinok a széles takarmányokat elfogyasztó kérődző vadfajainkban okoz megbetegedéseket. A felvett toxin koncentrációjától függően képes enyhébb máj- és vesekárosodást okozni, vagy súlyosabb esetekben idegrendszeri tünetek is kialakulnak. A *Fusarium* penészgombák által termelt toxinok nőivarú vadfajainkban is szaporodásbiológiai zavarokat okoz (péraduzzanat, vetélés, átmeneti meddőség, torz magzatfejlődés). Szarvasfélék hím egyedeinél a tartós zearalenon fogyasztásának hatására akár fél vagy egy évvel is eltolódhat az agancs levetése. Ennek következtében alakulhat ki a „duplakoszorú” képződés (Sugár 2007, Homonnay et al. 1977).

2.4. Az ochratoxin

A penészgomba anyagcseretermékek 1965-ös szisztematikus vizsgálata során *Aspergillus ochraceus* szűrletéből egy erősen nefrotoxikus és hepatotoxikus vegyületet izoláltak, amit ochratoxin A-nak (OTA) neveztek el. Később azonosították az ochratoxin A kevésbé toxikus klórmentes származékát, az ochratoxin B-t (deklórozott ochratoxin), valamint etil- és metil-származékait (2. ábra). Az ochratoxin A és B-n kívül ismert még az ochratoxin C (etilezett ochratoxin), az ochratoxin D (4-hidroxiokratoxin), a 10-hidroxi-ochratoxin és az ochratoxin α . Az ochratoxinokat az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetség fajai termelik, azokon belül is a fő termelők a *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* és az *Aspergillus niger*. Az OTA bioszintézisének folyamata a 3. ábrán követhető nyomon. A vékonybélből gyorsan és jól felszívódik, emellett erősen kötődik a vér plazmafehérjéihez. A belekben található baktériumok hatására ochratoxin α is keletkezik, mely szintén felszívódik a belekből (Varga et al. 2014, Babinszky & Halas 2019; Harčárová et al. 2022).

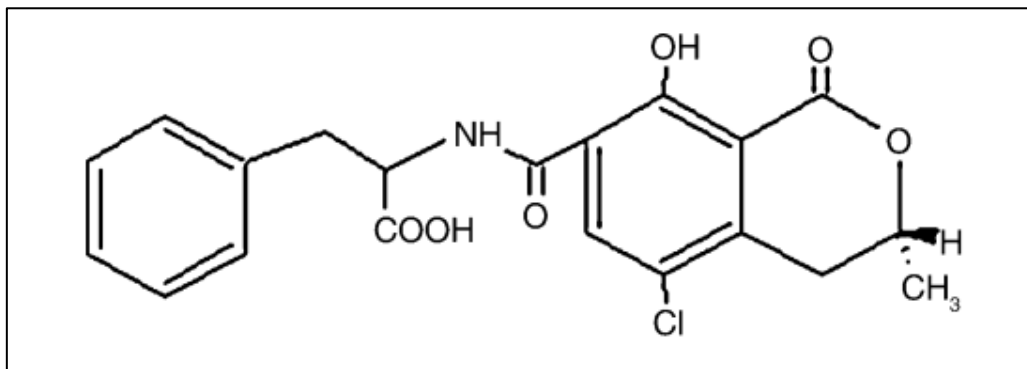


2. ábra Az ochratoxinok kémiai szerkezete (Rigot et al. 2006)

Az ochratoxin A részt vesz a különböző típusú rákos megbetegedések kialakulásában patkányokban, egerekben és emberekben. Egyre több *in vitro* és *in vivo* vizsgálat erősíti meg az oxidatív stressz szerepét az OTA toxicitásában és karcinogenitásában (Sorrenti et al. 2013). Az ochratoxin A több állatfajra nefrotoxikus, hepatotoxikus, teratogén és immunotoxikus, valamint vese- és májdaganatokat okozhat. Rágcsálókön végzett kísérletek is igazolták az OTA karcinogén hatásait, ez által az ochratoxin A az egyik legveszélyesebb vesekarcinogén. Az állatfajok fiziológiájában mutatkozó különbségek miatt a toxikokinetikai mintázatok nagy eltéréseket mutatnak. Az állatkísérletek alapján az ochratoxin A-t a Nemzetközi Rákkutatási

Ügynökség, mint lehetséges humán karcinogént, a 2B csoportba sorolta (Szigeti 2018; Ringot et al. 2006).

Az ochratoxint először Dél-Afrikában azonosították 1965-ben. Az egyes ochratoxin metabolitok veszélyesége: ochratoxin A > ochratoxin B > ochratoxin C > ochratoxin α . Az ochratoxin A erősen mérgező, nefrotoxikus és nefrokarcinogén hatású. Túlnyomórészt gabonamagvakban, kávéban, szárított gyümölcsökben, fűszerekben és takarmányokban jelenik meg. Az OTA jelen van állati termékekben is, mint hús, tej és egyes vizsgálatok szerint az anyatejben is előfordulhat (Mahendra 2020). Az ochratoxin nem közvetlen mutagén hatású, nem képes kovalens kötésre a DNS-sel, viszont az OTA okozta oxidatív stressz szerepet játszik a genotoxicitásában és a citotoxicitásában. A magas OTA koncentráció befolyásolja a toxin genotoxikus hatását. Több tényező is közre játszik abban, hogy a magasabb koncentráció káros hatással legyen és megnövelje a daganat kialakulásának esélyét (Gacem et al. 2020).



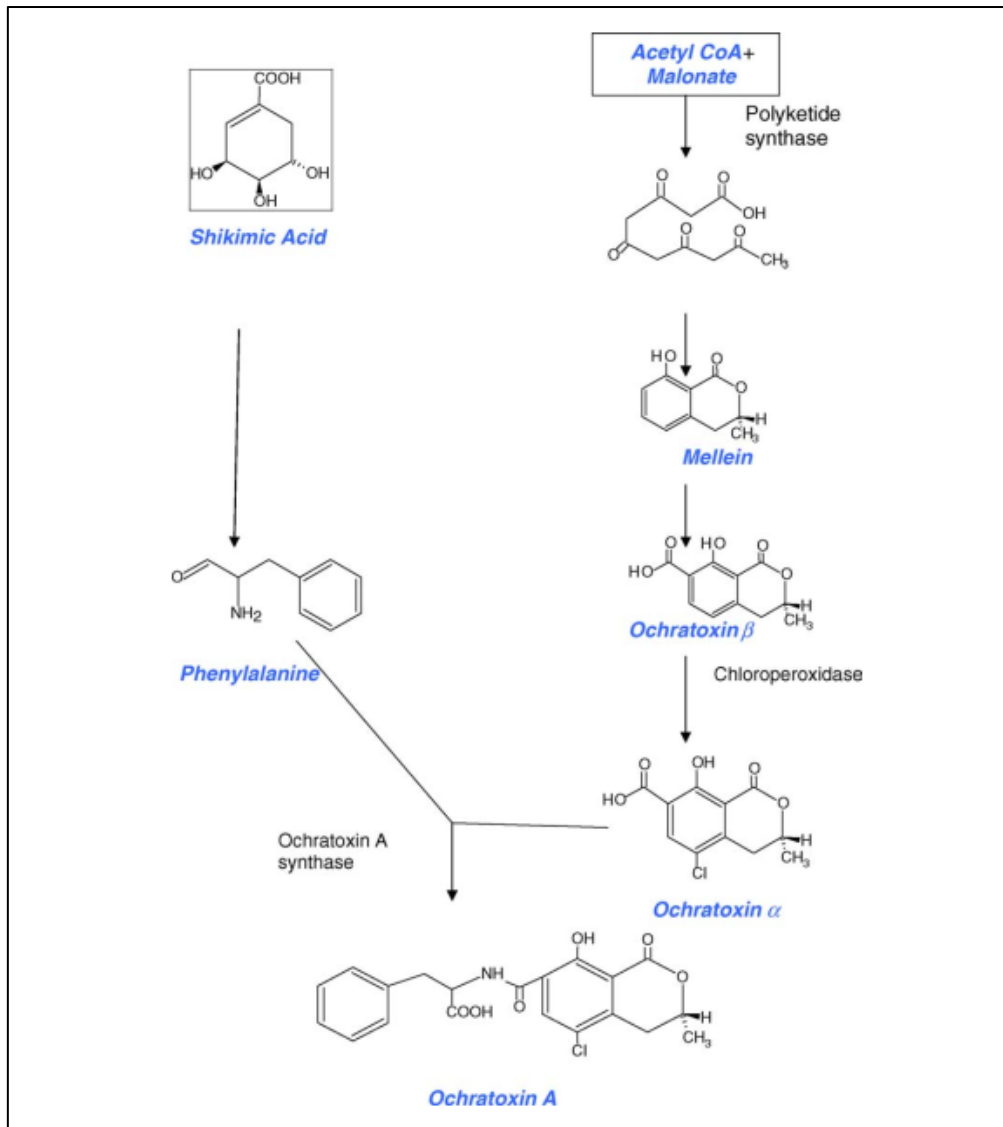
3.ábra Az ochratoxin A kémiai szerkezete (Rigot et al. 2006)

Az ochratoxin A elsődleges toxikus hatása vesekárosodásban nyilvánul meg, ugyanis gátolja a vesetubulusok membrán kötött enzimjeinek működését, így csökkenti ezen sejtek életfunkcióit. Emellett káros hatással bír a hasnyálmirigyre is, melynek hátterében az áll, hogy a hasnyálmirigy gyorsan és hatékonyan akkumulálja az ochratoxint. Emiatt, az enzimtermelés mellett a hasnyálmirigy inzulin elválasztása is gátolt lesz, így következményes hyperglucosuria (vizelet extrém magas glükóztartalma) és hyperglucosaemia (vérplazma extrém magas glükóztartalma) is kimutatható. A toxikus tünetek termeléseszkökenésben, fejlődésbeli lemaradásban, takarmányhasznosítás csökkenésében és baromfi esetében köszvényben nyilvánulnak meg. Leginkább a sertés és a baromfi érzékeny az ochratoxin mérgezésre. Az OTA LD₅₀ értéke tyúk fajban 3,3 mg/kg, kacsában 0,5 mg/kg, pulykában 5,9 mg/kg, fürjek esetében 16,5 mg/kg. Brojlersirkénél és tojótyúknál ochratoxin hatására jellegzetes tünet a vérplazma karotin tartalmának drasztikus csökkenése is. Súlyosbító tényező ochratoxin

esetében, hogy vérben a felezési ideje nagyon hosszú (80-500 óra), így hatását hosszú időn át képes kifejteni. Akut toxicitás ugyanakkor a takarmányok átlagos toxintartalma miatt (10-500 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ritkán alakul ki (Mézes, 2013).

Az OTA fiziológiás pH-n monoanion (OTA^-) és dianion (OTA^{2-}) formában van jelen. A nemionos forma csak savas közegben fordul elő, például a gyomorban. A takarmánnyal felvett OTA egy része (a nemionos és a monoanion forma) már a gyomorból is képes felszívódni, míg a fennmaradó hányad egy része a béltraktuson keresztül szívódik fel, majd a véráramba kerül, és több mint 99%-ban szérumfehérjékhez, nagyrészt albuminhoz kötődik. Elsősorban ez a rendkívül erős albuminkötődés eredményezi az OTA hosszú felezési idejét a szervezetben, mely a vérplazmában emberben a leghosszabb, kb. 1 hónap (Hagelberg és mtsai., 1989).

A különböző tanulmányok ugyanakkor egyetértenek abban, hogy a vesék és a máj tekinthetők az OTA fő célszervének, komoly nefrotoxikus hatást kiváltva (Ferrufino-Guardia et al., 2000).



4. ábra Az ochratoxin bioszintézise (Rigot et al. 2006)

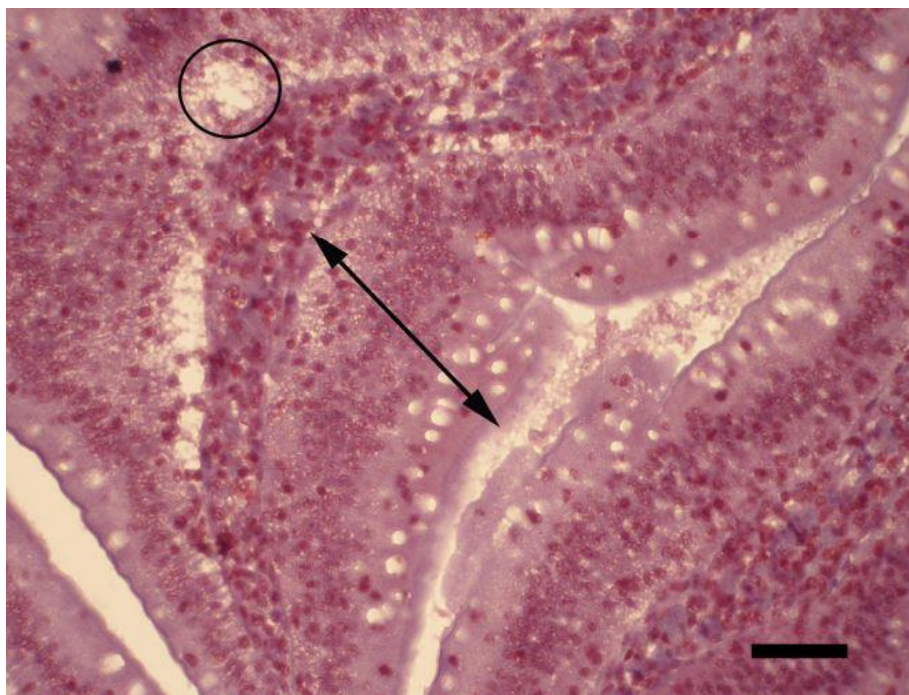
2.5. Az ochratoxin hatása a baromfikra

Az ochratoxin A-ról ismert, hogy oxidatív károsodást okoz a szövetekben, fokozza a lipidperoxidációt, megváltoztatja az antioxidáns enzimek aktivitását, illetve a GSH koncentrációját a különböző szövetekben. Viszont abban az esetben, ha az Európai Unió által maximális tolerálható mennyiséget fogyasztja a brojlercsirke (0,1 mg/kg) akkor az OTA-nak való kitettség nem fogja számottevően befolyásolni a lipidperoxidációt vagy oxidatív stressz paramétereit (Pozzo et al. 2012). Az OTA beindítja a szabadgyök-képződést, ennek következtében a májban és a vesében a malondialdehid szint növekszik (ezt befolyásolja a dózis nagysága és a mikotoxinnak való kitettség időtartama). A fokozott szabadgyök-képződés

aktiválja a biológiai antioxidáns védőrendszer különböző elemeit, így glutation-peroxidáz aktivitása nagyobb dózisú OTA terhelés hatására a májban és a vesében növekszik (Kövesi et al. 2019).

Vesély és Veselá (1991) tanulmányukban 25 mikotoxin embriotoxikus hatását vizsgálták két-, három-, illetve négynapos csirkeembriókban; majd az eredményeket az embriófejlődés nyolcadik napján értékelték. OTA esetében az embriotoxicitás 0,0001 és 0,1 µg között mozgott embrióként. A kutatók a jelentős növekedési retardáció mellett, exencephaliát, mikroftalmiát, csőrhasadékot, a végtagok redukciós deformitását, valamint a hasfal és a kamrai sövény defektusait észlelték. Veselá et al. (1982) mikor 0,03-0,5 µg dózistartományban beadott ochratoxin A-hoz folyamatosan 4 µg citrinint adtak, akkor csak additív hatást tapasztaltak. Ezáltal azt feltételezték, hogy a *Penicillium viridicatum* Westling egyes törzseiben az ochratoxin A-val együtt termelt citrinin nem fokozza annak az embriotoxikus hatását.

Az OTA jelentősen csökkenti a brojlercsirke növekedési ütemét. A csökkenést már az első héttől kezdve megfigyelhető azokban a csoportokban melyeket OTA-val kezelnek. Már a brojlercsirkék első hetes korában megfigyelhető a takarmányfogyasztás csökkenése és a takarmányértékesítés romlása (Sakthivelan & Rao 2010). A takarmánnyal felvett mikotoxinok a belekbe érkezve, a bélhámot is igen nagy mértékben károsíthatják koncentrációtól függően (20-50 µg OA/kg/ttkg/nap). Az OTA hatására a bélbolyhok jelentősen elvékonyodtak/rövidültek, a boholy magasság/kripta mélység aránya lecsökkent a folyamatos OTA terhelés hatására. A TCR1, TCR2, CD4+ és CD8+ intraepitheliális limfociták száma jelentős mértékben csökkent a folytonos OTA fogyasztás következtében. A hisztológiai vizsgálatok során jelentős számú CD4+ és CD8+ limfocita volt kimutatható a laminális propriában (Solcan et al., 2015).



5. ábra 28 napig OTA-nak kitett brojlersirke duodenum.

Nyálkahártya hám óriássejtekkel, ecetszegély nélkül (fekete nyíl) és számos kis vakuólum (kör) (Solcan et al., 2015).

Egy napos korú brojlersirkékkel végzett vizsgálat 100 µg/kg OTA-val szennyezett takarmány 28 napig történő fogyasztásának hatását vizsgálták a madarak vérszérumában az antioxidáns védőrendszer egyes elemeire és klinikai biokémiai paramétereire. A kontroll csoporthoz képest az OTA-terhelésben részesült egyedekben a globulin és a glükóz koncentráció szignifikáns ($P < 0,05$) csökkenését figyelték meg, viszont statisztikailag igazolt növekedés jelentkezett a TG koncentrációban és néhány májeredetű enzim (ALT, ALP) aktivitásában.

Ugyanakkor nem volt szignifikáns mértékű változás a vérszérum összfehérje, albumin, húgysav és koleszterin koncentrációjában, valamint az AST és GGT aktivitásban.

A májban, a lipidperoxidációs folyamatok metastabil végtermékeinek (TBARS) koncentrációja szignifikáns mértékben megemelkedett ($P < 0,05$) az OTA terhelésben részesült csoportban, ezzel párhuzamosan szignifikánsan alacsonyabb SOD, GST, kataláz és GPx aktivitás, valamint GSH koncentráció volt mérhető. A biokémiai változások hepatocelluláris sérülésekre, vesekárosodásra és az emésztőcsatorna megbetegedésére utaltak. Az antioxidáns profil kimutatta a hepatocelluláris degerenációt, illetve oxidatív stresszt. Végeredményben megállapítható volt, hogy 100 µg/kg OTA terhelés máj- és veseműködési zavart, hipoglikémiát,

fokozott máj lipidperoxidációt és csökkent antioxidáns szintet eredményezett brojlercsirkékben (Bharathi et al., 2014).

El-Fetouh et al. (2016) ochratoxinnal szennyezett takarmányt etettek napos kacsákkal a 30. életnapig. A 0.5 mg ochratoxin/kg takarmány dózisban OTA-val terhelt madarak esetében csökkent a súlygyarapodás és romlott a takarmányértékesítés.

A vérszérum összfehérje, albumin és globulin, valamint triglicerid és koleszterin koncentrációja szignifikáns mértékben csökkent, ugyanakkor a húgysav koncentrációjában, valamint néhány májeredetű enzim koncentrációjában statisztikailag igazolható növekedés jelentkezett.

Az OTA-val kezelt kacsáknál a hisztológiai vizsgálat masszív degeneratív elváltozásokat mutatott ki a proximális és disztális tubulusok vese epiteliális sejtjeiben, valamint egyes tubuláris epiteliális sejtek masszív nekrozisát.

2.6. Mikotoxinok mentesítésének lehetőségei

Mivel a takarmányban nem lehet elkerülni a mikotoxinok jelenlétét, az egyik leghatékonyabb mód a baromfi mikotoxinok való kitérségének csökkentésére, hogy olyan hatékony mérséklő anyagokat alkalmazunk, amelyek korlátozzák a mikotoxinok biológiai hozzáférhetőségét az állat emésztőrendszerében (Semenov et al. 2021). A mikotoxinkötő vegyületek hatásai azon alapulnak, hogy nagy felületi aktivitással rendelkeznek. A nagy aktív felülethez, egyes vegyületek esetében azon sajátosságok is társulnak, hogy olyan funkciós csoportjaik is vannak, amelyek a felületi töltésük révén képesek az apoláros vegyületek megkötésére (Kovács 2010). Egyes takarmány alapanyagok, valamint gyógynövények és azok kivonatai tartalmaznak olyan természetes bioaktív vegyületeket (kumarin, klorofill) amelyek hatékonyak lehetnek a mikotoxinok toxikus hatásai ellen (Galvano et al. 2001).

A takarmányban lévő alumínium-szilikátok az emésztési folyamatokban és a tápanyag-felszívódásban is szerepet játszhatnak, felelősek a takarmányok visszatartási idejének meghosszabbításáért, a táplálóanyagok emésztésének és felszívódásának javításáért. A szervezetbe bekerülő szilikát ásványok átmenetileg kapcsolatba kerülnek a táplálóanyagokkal, ami több időt biztosít a szervezetnek a takarmányban lévő táplálóanyagok felszívódására (Pavlak et al. 2023)

A mikotoxinok megkötésére és a szervezetre gyakorolt káros hatásainak mérséklésére több módszer és anyag létezik. Ilyen módszer az antioxidánsok etetése (E-, C-vitamin, szelén, karotinoidek, melatonin), a takarmányok bioaktív komponenseinek megválasztása, vagy

mikotoxinkötő vegyületek (aktív szén, agyagásványok, szén alapú polimerek) etetése (Kovács 2010). Az aktív szén, mint mikotoxinkötő már régóta ismert, bár a gyakorlatban nem terjedt el igazán. Az aktív szén bár nagy felülettel rendelkezik, de eredményességét sok tényező befolyásolja (részecske méret, adott mikotoxin kémiai szerkezete, szennyezettség mértéke) (Huwig et al. 2001).

A mikotoxinok elleni védekezés egyik lehetséges formája a biotranszformáció, amely során az egyes talajban megtalálható élesztő, vagy egyes bendőben megtalálható mikroorganizmusok által termelt enzimek hatékonyan bontják le a mikotoxinokat. Ilyen például a *Trichosporon mycotoxinivorans* által termelt enzim, mely képes megkötni az ochratoxin A kémiai amid kötését, amely egy izokumarin és L- β -fenilalaninból áll (Kovács 2010).

A zeolit körülbelül 45 különböző ásvány összefoglaló elnevezése. Közös tulajdonságuk, hogy aluminoszilikátok, jelentős pozitív kation kötési kapacitással. A zeolitok rendkívül pH érzékenyek, 4-es pH érték alatt részlegesen hidrolizálódnak, és ennek köszönhetően részben felbomlik a kristály szerkezet. Az állattenyésztésben takarmányadalékanyagként alkalmazva használják, mivel képes megkötni az emésztés során keletkező egyes potenciális káros anyagokat (Nagy et al. 2009)

Raj et al. (2021) 375 brojlersirkével folytatott vizsgálatuk során aflatoxin B1-el (0,05 vagy 0,1 mg AFB1/kg takarmány) és ochratoxin A-val (1 g vagy 2 g OTA/kg takarmány) szennyezett takarmányt etettek, klinoptilolit (zeolit) alapú mikotoxinkötő anyag mellett vagy anélkül. A mikotoxin terhelés mellett mikotoxinkötőt is fogyasztó egyedek esetében javult a takarmány hasznosítás és a vérszérum glutamát-dehidrogenáz (GDLH) szintje. Az alkalmazott mikotoxinkötő vegyület jelentősen csökkentette az AFB1 és az OTA mennyiségét az egyedek májában és lépében (Raj et al. 2021).

3. Anyag és módszer

A kísérletet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozásitani Intézet Takarmánybiztonsági Tanszék kísérleti telepén végeztem. A vizsgálathoz Cobb 540-es brojlercsirkéket használtunk (n=80), melyeket a Babádi Baromfikeltenő Kft-től szereztünk be napos korukban.

A naposcsibék érkezéskor 50 gramm körüli testtömeeggel rendelkeztek. A madarakat betelepítéskor a mérlegelést követően négy csoportra osztottunk (egy csoport 20 egyedből állt). Alomként az állatok alá fenyőfa forgácsot használtunk, és a takarmány és ivóvíz korlátlan mennyiségben állt a rendelkezésükre. Első életnapjuktól kezdve a vizsgálatban részt vevő egyedek teljes értékű brojler nevelő takarmányt fogyasztottak (Vitafort Zrt., Dabas), mely nem tartalmazott sem mikotoxinkötőt, sem kokcidiosztatikumot. Az etetett takarmány táplálóanyag-tartalma a következőképpen alakult:

Nyersfehérje: 19,34%, Nyersrost: 4,10%, Nyerszsír: 2,90%, Nyersshamu: 7,40%, ME: 10,69 MJ/kg, A-vitamin: 10050 NE/kg, D3-vitamin: 3015 NE/kg, Lizin: 0,95%, Metionin: 0,45%.

Az etetett takarmány táplálóanyag- és energiatartalma kielégítette a brojlercsirkék szükségletét (Magyar Takarmánykódex, 2004), a viszonylag alacsony energiatartalom oka, hogy a gyártó ezt a kokcidiosztatikum- és mikotoxinkötő-mentes takarmánykeveréket ajánlja kistermelők számára.

A kezelt csoportokkal etetett, mesterségesen mikotoxinnal szennyezett takarmányokhoz OTA tartalmú kukoricadara lett hozzákeverve. A kontrol csoport a szennyezetlen takarmányt kapta, míg két csoport (ochratoxinnal terhelt, ochratoxinnal terhelt és mikotoxinkötőt is tartalmazó) esetében a takarmány tervezett ochratoxin koncentrációja 1 mg OTA/kg volt. Az OTA terhelésben és mikotoxinkötő kezelésben együttesen részesült csoport esetében alkalmazott szerves mikotoxinkötő az agyagásványok (alumino-szilikát-oxidok) közé sorolható zeolit volt, melyet 2 g/kg koncentrációban került bekeverésre. A harmadik kezelt csoport esetében az OTA-val szennyezett kukoricadara bakteriális dekontaminációt követően került bekeverésre.

A kísérletet a madarak 28. életnapján indítottuk és két héten keresztül tartott. A kísérlet kezdetén két-két egyed lett véletlenszerűen kiválasztva minden csoportból (n=8), melyből hat egyed abszolút kontrollként került mintavételre, mérlegelésre, majd exterminálásra.

A vizsgálat csoportonként 18 egyeddel zajlott, melyből a vizsgálat hetedik és tizenegyedik napján (a vizsgált egyedek 35. és 42. életnapján) csoportonként hat egyed került mintavételre,

mérlegelésre, majd exterminalásra. Az egyes mintavételek alkalmával a madaraktól teljes vérmintát vettünk.

A vérvétel heparinnal ellátott vérvételi csövekbe történt, majd a levett vért a vörösvérsejtek hemolízisét elkerülve többször finoman összeforgattuk. A minták ezt követően hűtött környezetben a laboratóriumba kerültek (+4 °C), ahol 1500 fordulat/perc-en 10 percig centrifugáltuk őket abból a célból, hogy az alakos elemeket elválasszuk a vérplazmától. Az így nyert vérplazmát 1,5 ml-es Eppendorf csövekbe porcióztuk ki (1000 µl minta/cső).

A minták biokémiai analízise a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozásítani Intézet Takarmánybiztonsági Tanszék biokémia laborjában lett elvégezve. A biokémiai vizsgálat során a vérplazmából meghatározásra került néhány klinikai biokémiai paraméter, így az összfehérje, az albumin, a globulin, a húgysav, a karbamid, a kalcium és az anorganikus foszfor koncentráció, illetve egyes májeredetű enzimek (ALT, AST, GGT) aktivitása.

3.1. Összfehérje koncentráció

A vérplazma minták fehérjetartalma biuret reakcióval került meghatározásra (Weichselbaum, 1946). A biuret reakció alapja a biuret-reagensben található Cu(II) ionok reakciója a fehérjék peptidkötéseivel lúgos közegben, amely kék színű komplexet eredményez. A komplex fényelnyelésének mérése spektrofotométerrel 546 nm hullámhosszon, reagens vakkal szemben történt. Standardként DunaCAL kalibrációs standard-ot használtunk.

3.2. Az albumin koncentráció meghatározása

A vérplazma albumin koncentrációjának meghatározását a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészlettel végeztük. A reagenskészlet a Doumas et al. (1971) által leírt kolorimetriás, brómkrezolzöld módszerrel határozza meg a minta albumin koncentrációját. A brómkrezolzöld enyhén savas közegben az albuminhoz kötődve kékeszöld színű komplexet hoz létre, melynek abszorbanciája 628 nm-en vizsgálva arányos az albumin koncentrációjával.

3.3. A globulin koncentráció meghatározása

A minta összfehérje koncentrációjából az albumin koncentrációt kivonva kapjuk meg a vérplazma globulin koncentrációját.

3.4. A karbamid koncentráció meghatározása

A vérplazma karbamid koncentrációjának meghatározását a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészlettel végeztük a Talke és Schubert (1965) által leírt módszert alapján. Az aminosavak lebomlásaként keletkező ammónium-ion (NH_4^+) méregtelenítése a karbamid ciklusban megy végbe. A folyamat végtermékeként keletkező karbamid kis molekulatömegű, töltés nélküli molekula. A mérés azon az elven történik, hogy az ureáz enzim hatására víz jelenlétében 1 mol karbamidból 2 mol NH_4^+ keletkezik. A keletkező ammónium-iont a glutamát-dehidrogenáz (GLDH) 2- α -ketoglutarát és NADPH jelenlétében 2-L-glutamáttá, vízzé és NAD^+ -á alakítja. A NADH-NAD^+ átalakulási folyamatot 340 nm-en mérve abszorbancia csökkenést figyelhetünk meg.

3.5. A húgysav koncentráció meghatározása

A vérplazma húgysav koncentrációjának meghatározását a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészlettel végeztük. A méréshez Trivedi et al. (1978) által leírt módszert alkalmaztuk, mely szerint a húgysavból, urikáz enzim hatására és a peroxidáz aktivitásra révén lila kinon-származék és négy molekula víz keletkezik, és az így létrejövő szín abszorbanciája 546 nm-en mérve arányos a húgysav koncentrációjával.

3.6. A glükóz koncentráció meghatározása

A vérplazma glükóz koncentrációjának a meghatározásához a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészletet használtuk. A méréseket a Trinder (1969) által leírt módszer alapján végeztük el. A glükóz-oxidáz (GOD) a glükózt glükonsavvá alakítja, miközben a reakció során keletkező H_2O_2 a peroxidáz (POD) hatására bomlik és az indikátor reakció során színes kondenzációs termék alakul ki, mely 505 nm-en jól mérhető. Az abszorbancia növekedés mértéke a minta glükóz koncentrációjával arányos.

3.7. A koleszterin koncentráció meghatározása

A vérplazma koleszterin koncentrációjának a meghatározásához a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészletet használtuk. A vérplazma koleszterin koncentrációjának változása többnyire a máj működésének zavarait mutatja. A mérés Allain et al. (1974) által leírt módszer alapján történt. A koleszterinésztereket a koleszterinészter-hidroláz hidrolizálja. Az így létrejött szabad koleszterint a koleszterin-oxidáz, kolesztenonná alakítja át. A reakció közben hidrogén-peroxid keletkezik (H_2O_2). A H_2O_2 , a fenol és a 4-aminoantipirin

indikátorreakciója során peroxidáz enzim segítségével egy vörös színű kinon származék alakul ki. A kialakult szín intenzitás 505 nm-en mérve arányos lesz a koleszterin koncentrációval.

3.8. A triglicerid koncentráció meghatározása

A vérplazma triglicerid koncentrációjának meghatározását a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészlettel végeztük. A Bucolo és David (1973) által leírt meghatározás azon az elven alapul, hogy a triglicerideket a lipoprotein-lipáz glicerinné és zsírsavakra bontja. Ezután a glicerint a glicerinné-kináz (GK) adenzin-trifoszfát (ATP) és Mg^{2+} ionok jelenlétében foszforilálja. Az így keletkezett glicerinné-3-foszfátot molekuláris oxigén jelenlétében a glicerinné-3-foszfát-oxidáz (GPO) oxidálja. Fenol származék és 4-aminoantipirin indikátor reakcióval a folyamat során felszabaduló H_2O_2 peroxidáz enzim jelenlétében színes terméket ad, mely 505 nm-en mérhető.

3.9. A kalcium koncentráció meghatározása

A vérplazma kalcium koncentrációjának a meghatározásához a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészletet használtuk. A vérplazma kalcium koncentrációjának meghatározása az arzenazo módszer szerint történt (Bauer, 1981). A vizsgálat során semleges pH-n az arzenazo III Ca^{2+} jelenlétében komplexet hoz létre és az így létrejövő színintenzitás 600 nm-en mérve a kalcium koncentrációval lesz arányos.

3.10. Az anorganikus foszfor koncentráció meghatározása

A vérplazma anorganikus foszfor koncentrációját a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészlettel határoztuk meg. A mérés Daly és Erthinghausen (1972) módszere alapján történt. A vizsgálat elve azon alapszik, hogy savas közegben a foszfor az ammónium-molibdáttal többlépéses reakció során foszfomolibdén-sav komplexet hoz létre. Ezen reakció 340 nm-en követhető nyomon és a megfigyelt abszorbancia növekedés arányos lesz az anorganikus foszfor koncentrációjával.

3.11. Az alanin-aminotranszferáz (ALT) aktivitás meghatározása

Az alanin-aminotranszferáz (ALT) aktivitás meghatározásának alapelve, hogy optimális pH-n az ALT katalizálja az L-alanin és 2-oxoglutarát átalakulását. A reakcióban keletkező piruvátot a laktát-dehidrogenáz (LDH) segédenzim NADH koenzim jelenlétében L-laktáttá alakítja, miközben a NADH-NAD⁺ oxidációs-redukciós folyamatot 340 nm-en abszorbancia csökkenés kíséri (Bowers et al., 1979b). Az abszorbancia változás arányos a szérum ALT aktivitásával.

3.12. Az aszpartát-aminotranszferáz (AST) aktivitás meghatározása

A vérplazma aszpartát-aminotranszferáz (AST) koncentrációjának a meghatározását a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészlettel végeztük. Az aszpartát-aminotranszferáz (AST) egy dimer molekula, melyet többféle szövet képes szintetizálni. Az AST aktivitás meghatározását Bowers et al. (1979a) által leírt módszerrel végeztük. A meghatározási elv, hogy az α -ketoglutarát + L-aszpartát az AST/GOT katalizátor segítségével L-glutamátot és oxálacetátot képez. Az előzőekben kialakult oxálacetát NADH-val reagálva az MDH (malát-dehidrogenáz) segédenzim segítségével, L-maláttá és NAD^+ -á alakul. A NADH- NAD^+ oxidációs-redukciós folyamatot 340 nm-en vizsgálva abszorbancia csökkenés jellemzi, mely arányos lesz az AST koncentrációval.

3.13. A gamma-glutamiltranszferáz (GGT) aktivitásának meghatározása

A vérplazma gamma-glutamiltranszferáz (GGT) koncentrációjának a meghatározásához a Diagnosticum Zrt. által forgalmazott reagenskészletet használtuk. A gamma-glutamiltranszferáz a májban, vesében és a hasnyálmirigyben termelődő enzim, viszont a vérplazmában máj eredetű. Megnövekedett GGT aktivitást toxikus májkárosodás esetén mérhetünk. A GGT aktivitás méréséhez a módosított Szasz-módszert alkalmaztuk (Szasz et al. 1974) melynek elve, hogy a GGT a gamma-glutamil csoport átvitelét katalizálja az L-gamma-glutamil-3-karboxi-4-nitroanilid szubsztrátról a glicilglicinre. A reakció során felszabaduló p-nitroanilin pedig arányos lesz a szérum GGT aktivitásával, melyet 405 nm-en tudunk vizsgálni.

3.14. A laktát-dehidrogenáz (LDH) aktivitásának meghatározása

A laktát-dehidrogenáz (LDH) aktivitás meghatározása a módosított IFCC (1982) módszer szerint történt, amelynek elve, hogy az LDH enzim $\text{pH}=7,5$ pufferben NaCl és NADH jelenlétében katalizálja a piruvát átalakulását laktáttá. A NADH átalakulását NAD^+ formára 340 nm-en mérhető abszorbancia csökkenés kíséri. Az abszorbancia változás arányos a szérum LDH aktivitásával.

4. Eredmények és értékelésük

A brojlercsirkék vérplazmájának összfehérje koncentrációjának alakulását a kísérlet ideje alatti az 6. ábrán láthatjuk.

A második mintavétel alkalmával, vagyis a mikotoxin-terhelés 7. napján statisztikailag igazolható ($p < 0,05$) mértékben alacsonyabb összfehérje koncentrációt mértük az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban („OCHRA”), mint a kontroll.

A dekontamináláson átesett takarmányt fogyasztó csoport („DEKONT”) és a kontroll csoport között ugyancsak szignifikáns különbség ($p < 0,01$) mutatkozott.

Ezzel szemben az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoportban („KÖTŐ”) a vérplazma összfehérje koncentrációja a kontroll csoport értékéhez hasonló volt, mely statisztikailag igazolható mértékben ($p < 0,05$) meghaladta a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport („DEKONT”) esetében mért értéket.

A mikotoxin-terhelés 14. napján viszont ezzel ellentétes változás volt megfigyelhető, hiszen az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) vérplazmájának összfehérje koncentrációja szignifikáns mértékben elmaradt mind az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban („OCHRA”) mért értéktől ($p < 0,01$), mind pedig a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport („DEKONT”) értékétől ($p < 0,05$).

Sakthivelan és Rao (2010) brojlercsirkékkel végzett nagy dózisú (1 mg/kg OTA és 2 mg/kg OTA) mikotoxin-terhelés mellett lefolytatott kísérlete során a vérszérum összfehérje koncentrációjának szignifikáns mértékű csökkenéséről számolt be.

Hasonló dózisú (2 mg/kg OTA), a madarak 14. és 40. életnapja közötti mikotoxin-terhelésben részesült brojler kakasok esetében Qu et al. (2017) az összfehérje, az albumin és a globulin koncentrációk statisztikailag igazolható mértékű csökkenését tapasztalták a vérszérumban.

Gulfam et al. (2018) brojlercsirkéket napos kortól a 42. életnapig 0,4 mg OTA/kg terhelés mellett nevelve ugyancsak leírták az összfehérje, az albumin és a globulin koncentrációk szignifikáns mértékű csökkenését.

Hasonló megfigyeléseket tett Manning és Wyatt (1984), Huff et al. (1988) és Kubena et al. (1988) is.

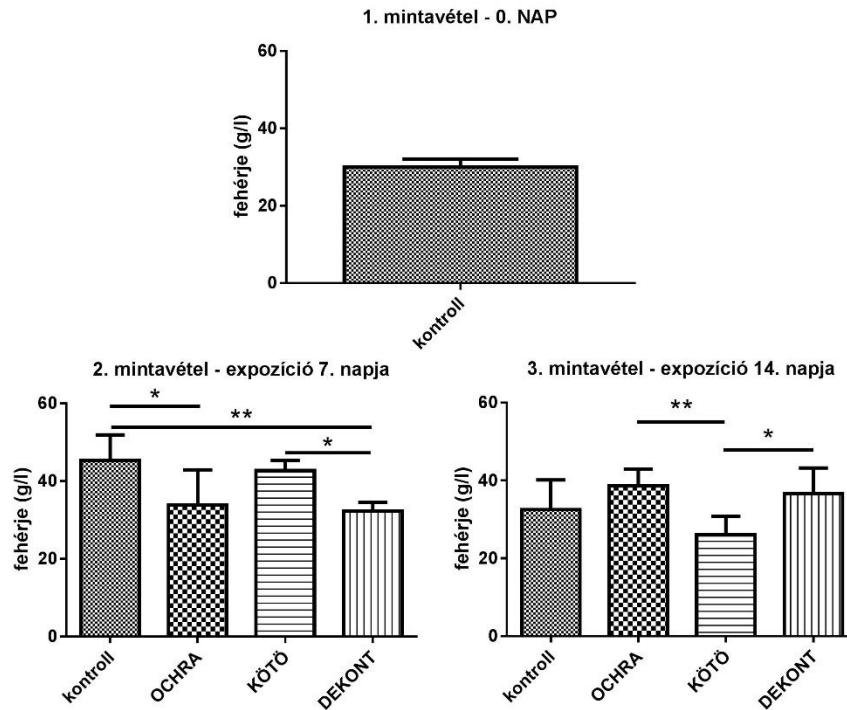
Huff et al. (1988) arról számoltak be, hogy az összfehérje és az albumin az ochratoxikózis érzékeny indikátora. Konrad és Roeschenthaler (1977), valamint Creppy et al. (1979) és Solcan et al. (2015) szerint az a mechanizmus, amellyel az OTA hipoproteinaemiát és hipoalbuminaemiát okoz, a fenilalanin által okozott fenilalanil-transzfer-RNS-szintetáz gátlásának köszönhető.

Ezzel szemben Bharathi et al. (2014) brojlercsirkéket napos kortól a 28. életnapig 0,1 mg OTA/kg terhelés mellett hizlalva nem tapasztaltak statisztikailag igazolható változást a vérérum összfehérje és globulin koncentrációjában a kontroll csoport értékeivel összevetve.

Pozzo et al. (2013) Hubbard genotípusú brojler kakasokat napos kortól 0,1 mg OTA/kg takarmány eredetű mikotoxin-terhelésnek kitéve viszont beszámoltak a vérérum összfehérje, albumin és globulin koncentrációjának szignifikáns mértékű csökkenéséről.

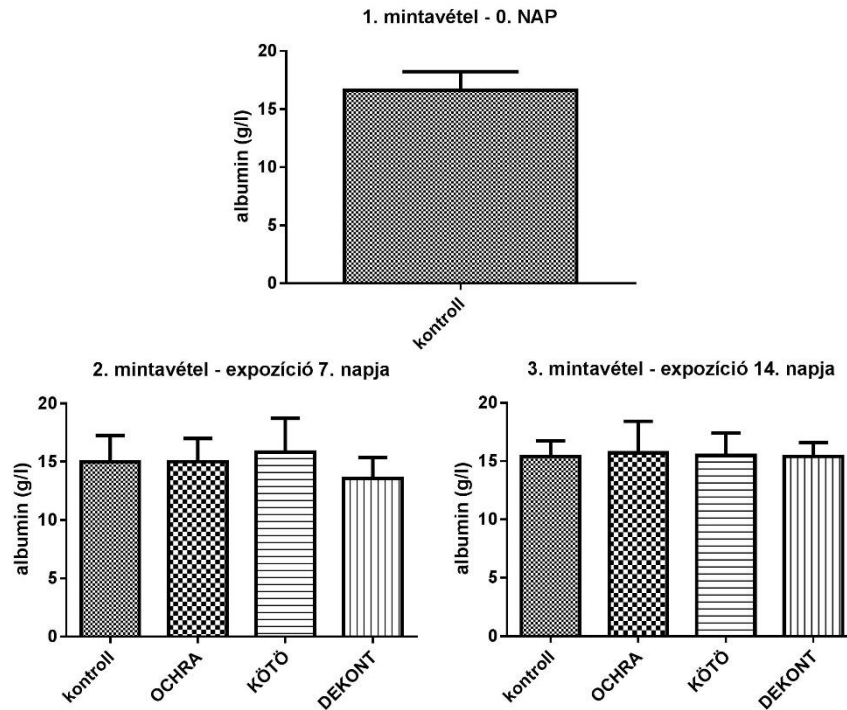
Ezzel szemben az általam bemutatott, 1 mg OTA/kg ochratoxin koncentrációval végzett kísérletben a vérplazma összfehérje és a globulin koncentrációjának statisztikailag igazolható mérséklődését csak a mikotoxin-expozíció 7. napján tapasztaltuk, a mikotoxin terhelés 14. napján mindkét paraméter koncentrációja a kontroll csoport értéke körül alakult.

A takarmány eredetű ochratoxin terhelés az összfehérje és az albumin dóziszfüggő csökkenését eredményezte fehér leghorn tyúkoknál (Hassan et al., 2012). Raju és Devegowda (2000) szerint a fehérjeprofil csökkenése az ochratoxikózis során a csökkent takarmányfelvételnek tudható be és/vagy a fehérje bioszintézisének csökkenése okozza, mivel az ochratoxin gátolja a máj fehérjeszintézisét (Prior et al., 1980).



6.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának összfehérje koncentrációjára

Ahogy az a 7. ábrán látható, a kísérlet teljes időtartama alatt a kísérleti állatok vérplazmájában mért albumin koncentráció egyik mintavételi időpontban sem mutatott statisztikailag igazolható eltérést.



7.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának albumin koncentrációjára

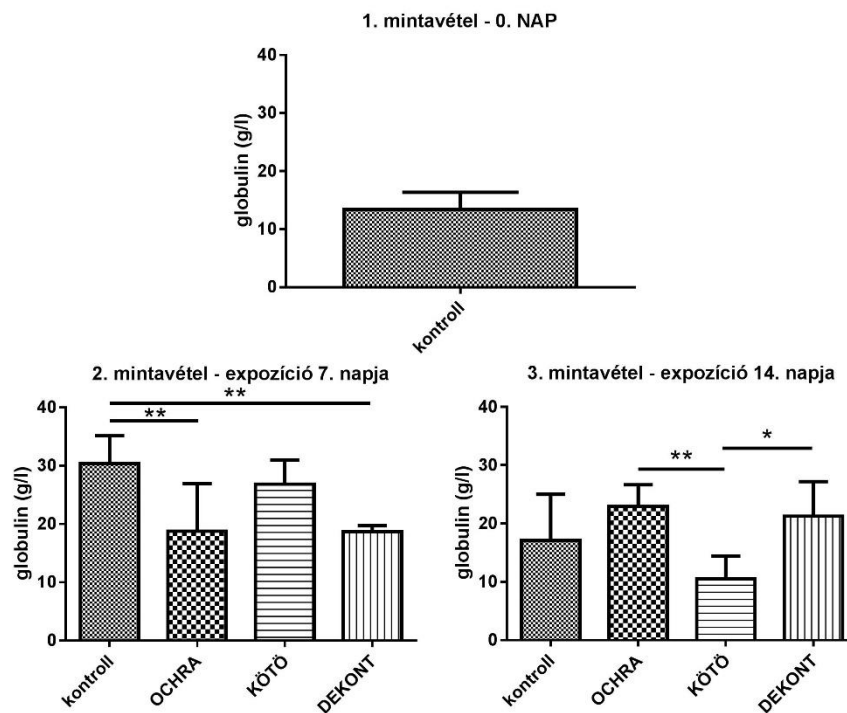
Kísérletünkben a brojlercsirkék vérplazmájának globulin koncentrációja az összfehérje koncentráció esetén megfigyeltekhez hasonlóan változott (8. ábra).

A második mintavétel alkalmával, vagyis a mikotoxin-terhelés 7. napján statisztikailag igazolható ($p < 0,01$) mértékben alacsonyabb összfehérje koncentrációt mértük az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban („OCHRA”), valamint a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoportban („DEKONT”), mint a kontroll.

Ezzel szemben az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoportban („KÖTŐ”) a vérplazma globulin koncentrációja a kontroll csoport értékéhez hasonló volt.

A mikotoxin-terhelés 14. napján viszont ezzel ellentétes változás jelentkezett, hiszen az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) vérplazmájának globulin koncentrációja szignifikáns mértékben elmaradt mind az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban („OCHRA”) mért értéktől

($p < 0,01$), mind pedig a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport („DEKONT”) értékétől ($p < 0,05$).

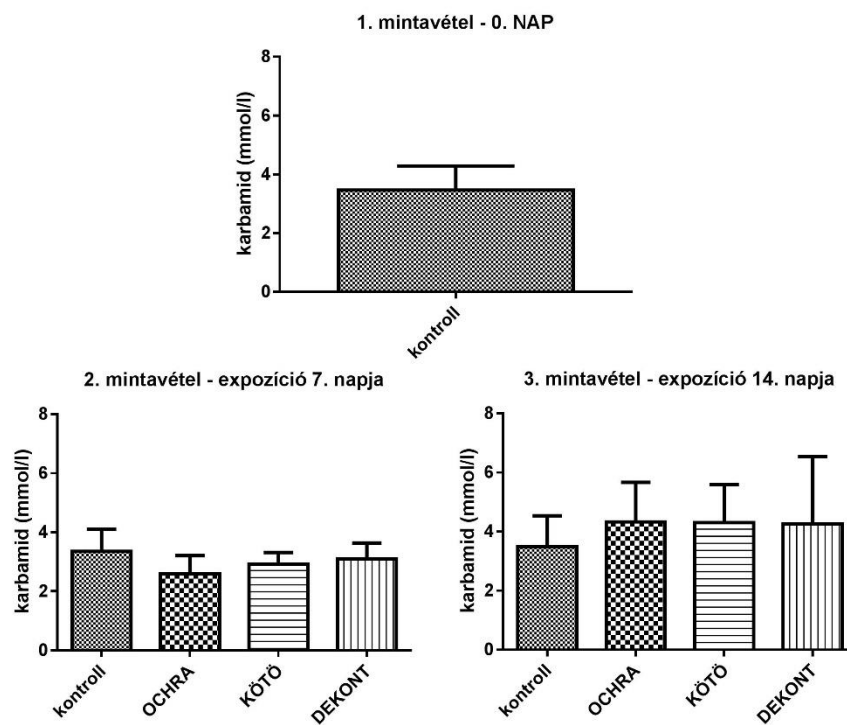


8.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának globulin koncentrációjára

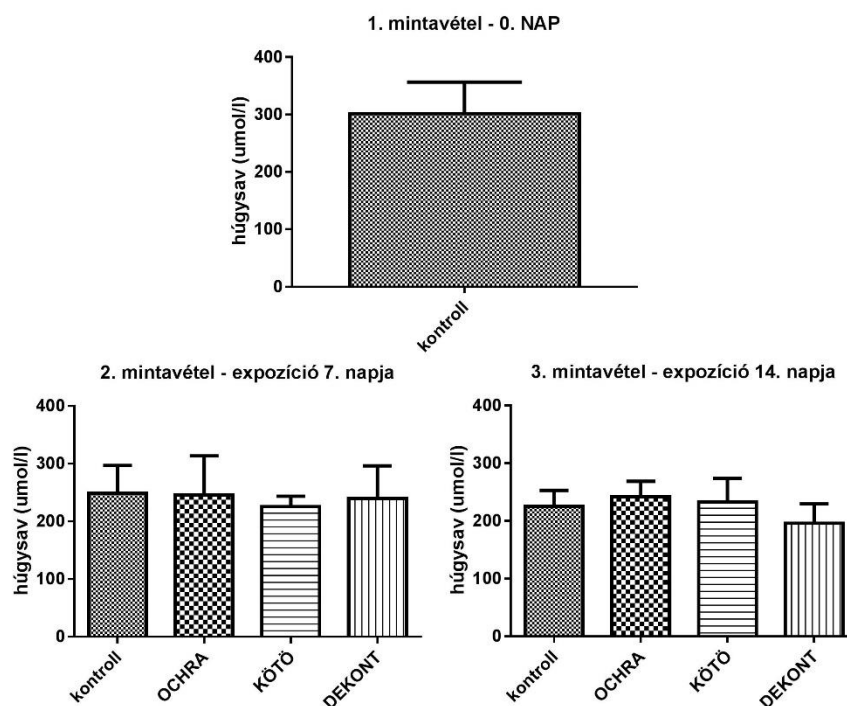
A vérplazma karbamid és húgysav koncentrációjában a kísérlet teljes időtartama egyik mintavételi időpontban sem jelentkezett statisztikailag igazolható eltérés (9. és 10 ábra).

El-Fetouh et al. (2016) napos kacsákat a 30. életnapig nevelve 0,5 mg/kg takarmány eredetű OTA-terhelés mellett a vészérum húgysav koncentrációjának statisztikailag igazolható emelkedését írták le. Ez az ochratoxinak a vese kiválasztó funkcióját negatívan érintő hatására vezethető vissza.

Sakhare et al. (2007) ugyancsak arról számoltak be, hogy az ochratoxin növelte a húgysav koncentrációját brojlercsirkék vészérumában, mely az ochratoxin által előidézett vesekárosodásra utal (Raju és Devegowda, 2000).



9.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának karbamid koncentrációjára

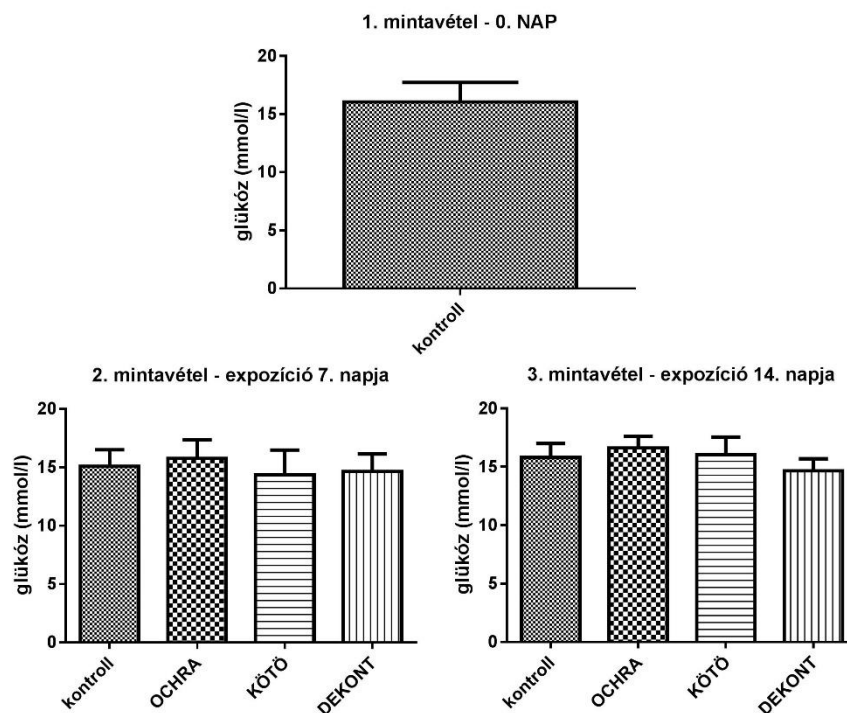


10.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának húgysav koncentrációjára

Ahogy az a 11. ábrán megfigyelhető, a kísérleti állatok vérplazmájában mért glükóz koncentráció a vizsgálat teljes időtartama alatt egyik mintavételi időpontban sem mutatott statisztikailag igazolható eltérést.

Ugyanakkor Bharathi et al. (2014) brojlercsirkéket napos kortól a 28. életnapig hizlalva 0,1 mg OTA/kg terhelés mellett szignifikáns mértékű ($P < 0,05$) csökkenést figyeltek meg a glükóz koncentrációban a kontroll csoporttal összevetve.

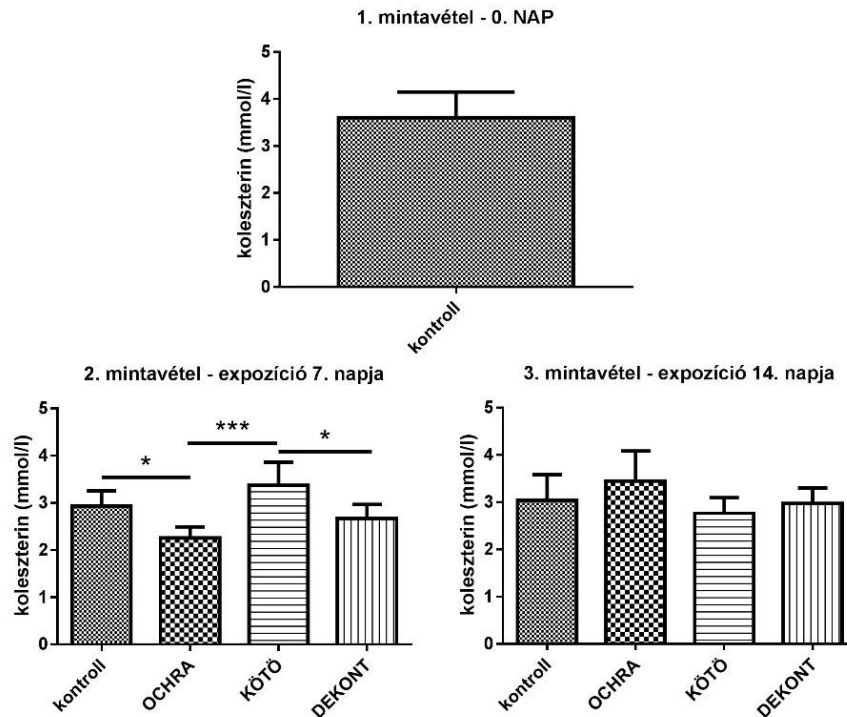
Ezzel szemben Joo et al. (2013) Ross 308-as genotípusú napos brojler kakasokkal indított, 1 mg/kg és 2 mg/kg OTA-terhelés mellett lefolytatott kísérletükben a glükóz koncentrációban statisztikailag igazolható növekedéséről írtak.



11.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának glükóz koncentrációjára

A mikotoxin-terhelés 7. napján az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoport („OCHRA”), valamint a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport („DEKONT”) vérplazmájában mért koleszterin átlagértéke elmaradt a kontroll csoportban mért értéktől, míg az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) átlagértéke a kontroll csoportban mért értéket kismértékben meg is haladta (X7. ábra).

Emiatt az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) átlagértéke és a másik két kezelt csoport átlagérték között mutatkozó különbség statisztikailag is igazolhatónak bizonyult (12. ábra).



12.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának koleszterin koncentrációjára

Ahogy az a 13. ábrán látható, a kísérlet teljes időtartama alatt a kísérleti állatok vérplazmájának triglicerid koncentrációja egyik mintavételi időpontban sem mutatott statisztikailag igazolható eltérést.

Viszont a mikotoxin-terhelés mindkét mintavételi időpontjában az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoport („OCHRA”), valamint a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport („DEKONT”) átlagértéke elmaradt a kontroll csoportban mért értéktől, míg az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) átlagértéke a kontroll csoportban mért értékekhez hasonlóan alakult (X8. ábra).

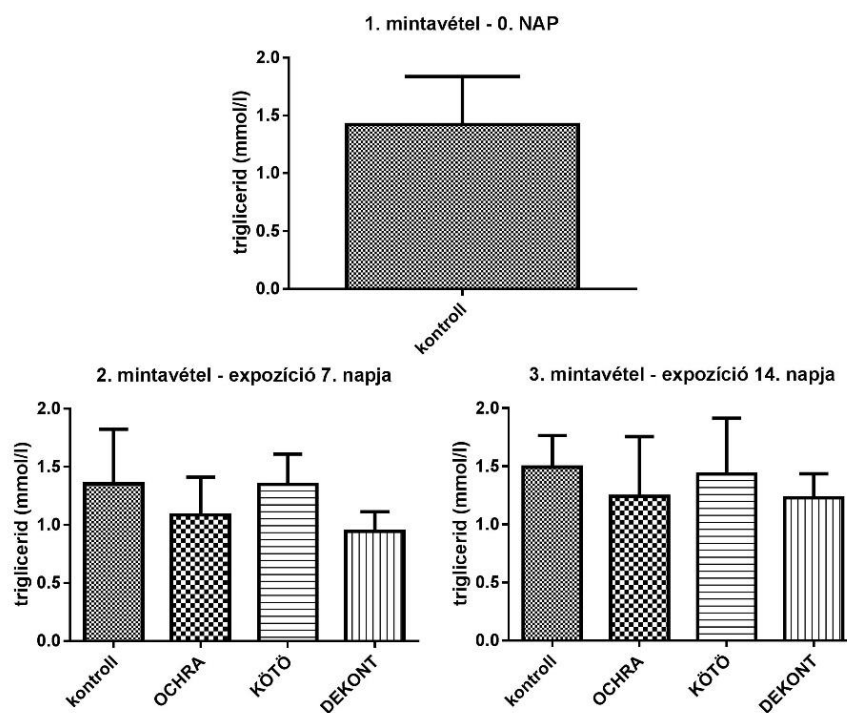
A brojlercsirkék vérében az összkoleszterinszint csökkenése az OTA májkárosító hatásának egyik indikátora is lehet. A takarmány eredetű OTA-terhelés (4 mg/kg) a vér koleszterin koncentrációjának szignifikáns mértékű csökkenését okozta 21 napos brojlercsirkékben (Huff et al., 1988).

Stoev et al. (2000) szerint az OTA képes volt enyhe degeneratív változásokat előidézni a hepatocitákban, ami következésképpen a vér koleszterin koncentrációjának csökkenéséhez vezetett.

Elaroussi et al. (2008) szerint az ochratoxin-terhelés brojlercsirkékben az összes lipid, a trigliceridek és a koleszterin csökkenését idézi elő. Schaeffer et al. (1987) ugyancsak a vérszérum összlipid, koleszterin és trigliceridek csökkenéséről számoltak be ochratoxinnal kezelt brojlerekben.

El-Fetouh et al. (2016) napos kacsákat a 30. életnapig nevelve 0,5 mg/kg takarmány eredetű OTA-terhelés mellett a vérszérum koleszterin és triglicerid koncentrációjának statisztikailag igazolható mértékű csökkenését írták le.

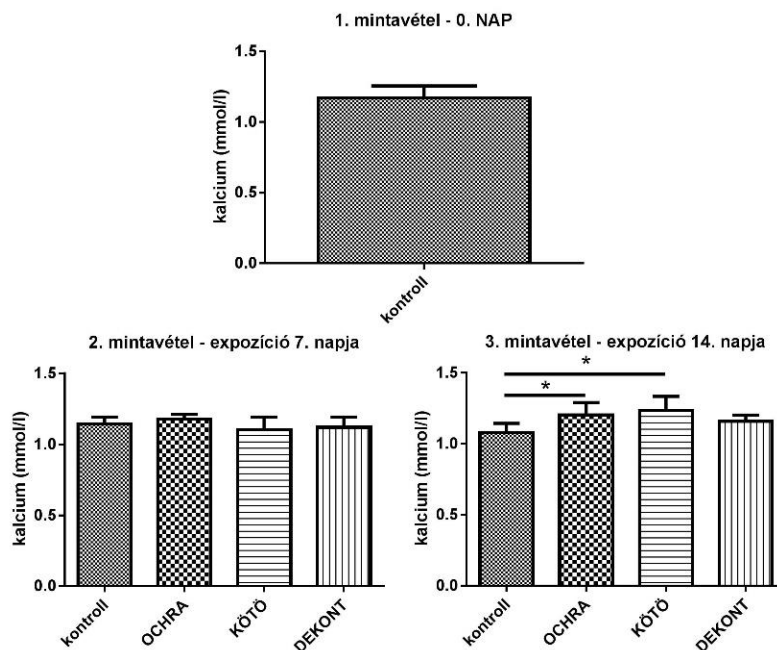
Ugyanakkor Bharathi et al. (2014) brojlercsirkéket napos kortól a 28. életnapig 0,1 mg OTA/kg terhelés mellett hizlalva szignifikáns mértékű növekedést tapasztaltak a vérszérum triglicerid koncentrációjában.



13.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának triglicerid koncentrációjára

A brojlercsirkék vérplazmájának kalcium koncentrációjában bekövetkező változásokat a kísérlet ideje alatti mintavételek alkalmával az 14. ábrán követhetjük nyomon.

A mikotoxin-terhelés 7. napján nem jelentkezett statisztikailag igazolható különbség a kísérleti csoportok között, ellenben annak 14. napján (a 3. mintavétel során) az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoport („OCHRA”), valamint az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) átlagértéke szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) meghaladta a kontroll csoportban mért értéket (14. ábra).



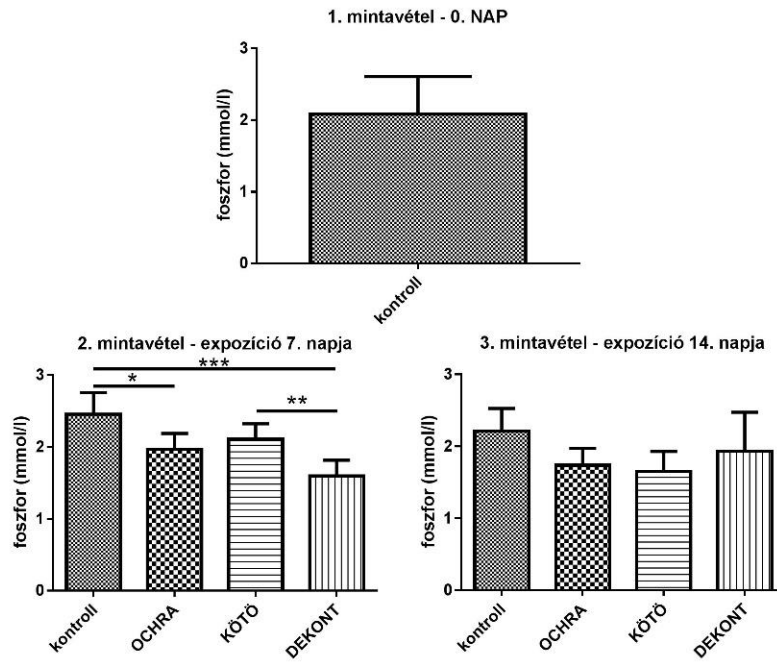
14.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának kalcium koncentrációjára

A brojlercsirkék vérplazmájában az anorganikus foszfor koncentrációjának alakulását a kísérlet ideje alatti mintavételek alkalmával az 15. ábra szemlélteti.

A második mintavétel alkalmával, vagyis a mikotoxin-terhelés 7. napján statisztikailag igazolható mértékben alacsonyabb foszfor koncentrációt mértük az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban („OCHRA”) ($p < 0,05$), illetve a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoportban („DEKONT”) ($p < 0,001$), mint a kontroll.

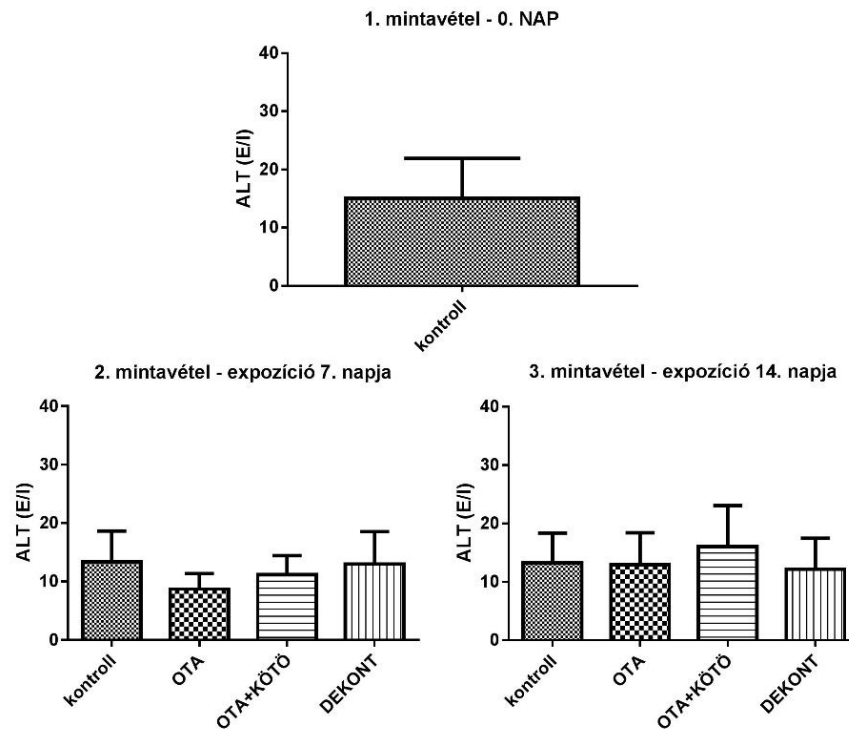
Ezzel szemben az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoportban („KÖTŐ”) a vérplazma anorganikus foszfor koncentrációja a kontroll csoport értékéhez hasonló volt, mely statisztikailag igazolható mértékben ($p < 0,01$) meghaladta a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport („DEKONT”) átlagértékét.

Ugyanakkor a harmadik mintavétel alkalmával, vagyis a mikotoxin-terhelés 14. napján már nem jelentkezett statisztikailag igazolható eltérés a kísérleti csoportok között (15. ábra).



15.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának anorganikus foszfor koncentrációjára

A brojlercsirkék vérplazmájában mért alanin-aminotranszferáz (ALT) aktivitás változása a 16. ábrán látható. Statisztikailag igazolható eltérés egyik mintavételi időpontban sem jelentkezett a kísérleti csoportok között.

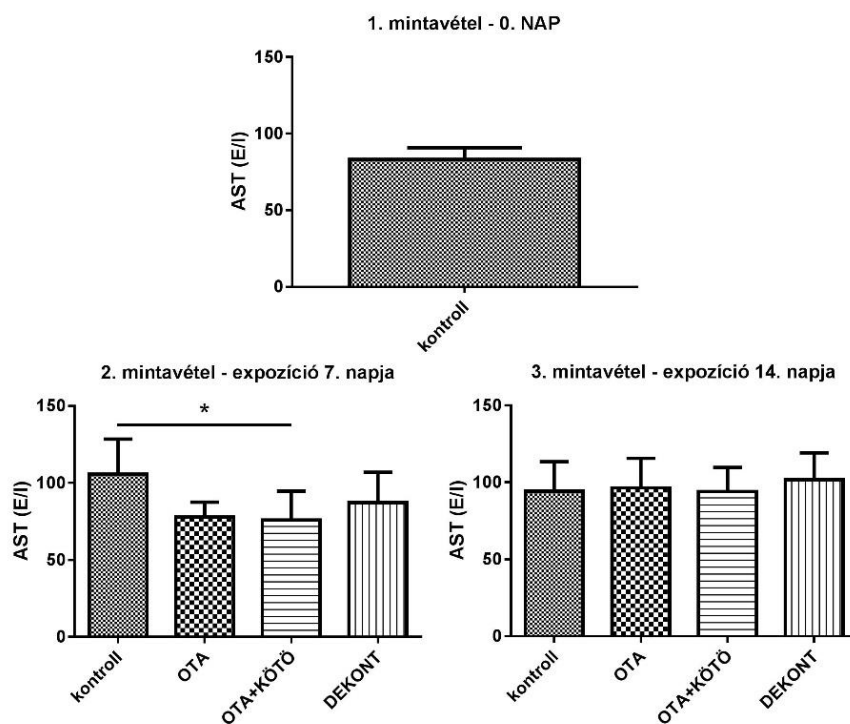


16.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának alanin-aminotranszferáz aktivitására

A 17. ábrán a brojlercsirkék vérplazmájában mért aszpartát-aminotranszferáz (AST) aktivitás változása követhető nyomon.

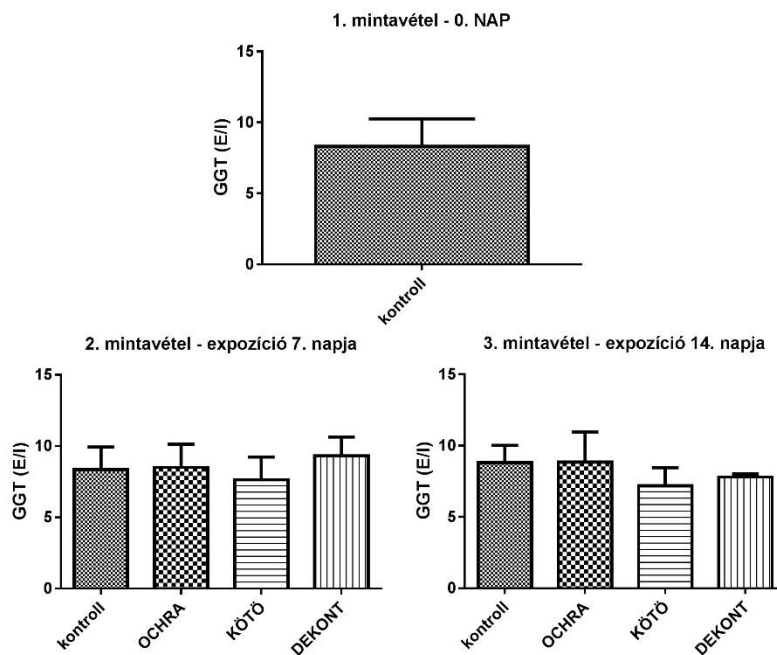
A második mintavétel alkalmával, vagyis a mikotoxin-terhelés 7. napján statisztikailag valamennyi ochratoxin terhelésben részesült csoportban a kontroll értékétől elmaradó enzimaktivitás volt mérhető, mely az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) esetében szignifikáns mértékűnek ($p < 0,05$) bizonyult.

Ugyanakkor a harmadik mintavétel alkalmával, vagyis a mikotoxin-terhelés 14. napján már nem tapasztalunk statisztikailag igazolható eltérést a kísérleti csoportok között (17. ábra).



17.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának aszpartát-aminotranszferáz aktivitására

A brojlercsirkék vérplazmájában mért gamma-glutamil-transzferáz (GGT) aktivitás változása a 18. ábrán látható. Statisztikailag igazolható eltérés egyik mintavételi időpontban sem jelentkezett a kísérleti csoportok között.

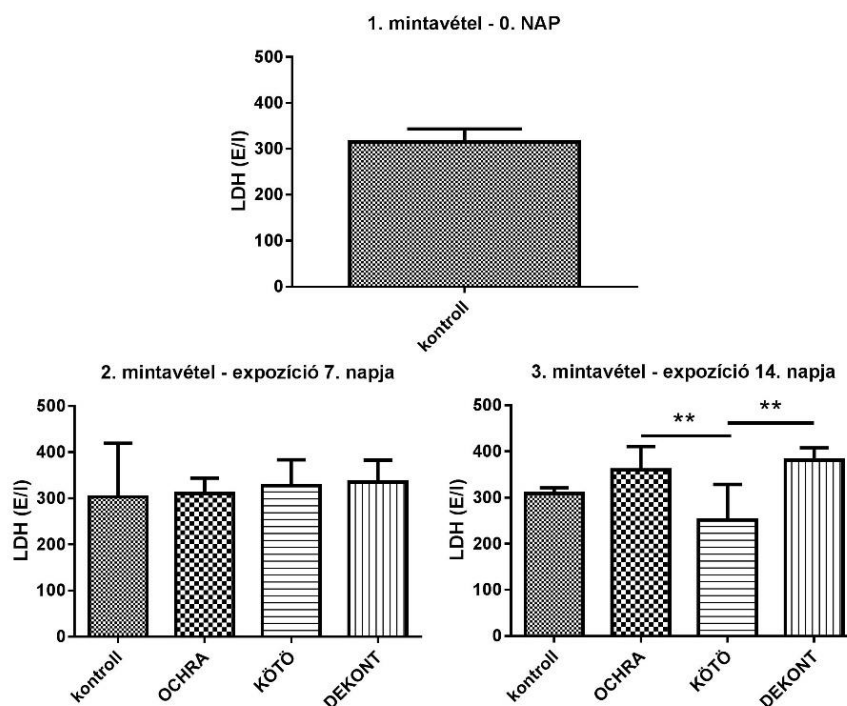


18.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotoxinkötő, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának gamma-glutamil-transzferáz aktivitására

A 19. ábrán a brojlercsirkék vérplazmájában mért laktát-dehidrogenáz (LDH) aktivitás változása követhető nyomon.

A mikotoxin-terhelés 7. napján szignifikáns eltérés nem jelentkezett a kísérleti csoportok között, viszont valamennyi a mikotoxin terhelésben részesült csoportban a kontroll csoport értékét kismértékben meghaladó enzimaktivitást mértünk.

Ez a tendencia az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoport („OCHRA”), illetve a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport („DEKONT”) esetében a mikotoxin-terhelés 14. napján is megfigyelhető volt, ugyanakkor az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport („KÖTŐ”) átlagértéke a kontroll érték alá csökkent, mely szignifikáns mértékű ($p < 0,05$) eltérést jelent a másik két kezelt csoport átlagértékével összevetve.



19.ábra Az ochratoxin A hatása önállóan, illetve mikotokó, valamint biológiai dekontamináció mellett brojlercsirkék vérplazmájának tejsav-dehidrogenáz aktivitására

A krónikus mikotokózisok diagnosztizálhatók a vészérum/vérplazma biokémiai változásainak meghatározásával, még a jelentősebb klinikai tünetek megjelenése előtt (Oguz et al. 2000).

Több tanulmányban az OTA terhelésben részesült brojlercsirkékben és kacsákban a vészérum ALT, AST, ALP és GGT aktivitásának emelkedését tapasztalták.

Joo et al. (2013) Ross 308-as genotípusú napos brojler kakasokkal végzett, 1 mg/kg és 2 mg/kg OTA dózisokkal lefolytatott kísérletük ALT és AST aktivitás szignifikáns mértékű növekedését írták le.

Qu et al. (2017) 2 mg/kg OTA dózist alkalmazva brojler kakasokban az ALT, AST, ALP, GGT aktivitások statisztikailag igazolható mértékű növekedését tapasztalták a vészérumban. Ugyanezen májeredetű enzimek aktivitása az OTA mellett 2 g/kg koncentrációban Na-montmorillonit mikotokó alkalmazása mellett kisebb mértékű növekedést mutatott a kizárólag OTA terhelésben részesült csoporthoz viszonyítva.

Farooqui et al. (2019) brojlercsirkékkel a 8. és 35. életnapjuk között lefolytatott mikotokó-terheléses kísérletükben, 57 µg/kg aflatoxin B1 és 23 µg/kg ochratoxin A együttes alkalmazása

mellett az ALT aktivitás szignifikáns növekedéséről számoltak be. Ugyanakkor az általuk alkalmazott agyagásvány-típusú mikotoxinkötő (Toxfin Dry) mérsékelte az ALT aktivitás növekedését, melynek eredményeképpen már nem mutatkozott statisztikailag igazolható különbség a kontrollhoz képest.

Gulfam et al. (2018) brojlersirkéket napos kortól a 42. életnapig 0,4 mg OTA/kg terhelés mellett nevelve ugyancsak leírták az ALT és ALP aktivitás statisztikailag igazolható mértékű növekedését már a mikotoxin expozíció első hetétől kezdődően.

Bharathi et al. (2014) brojlersirkékkel végzett kísérletükben 0,1 mg OTA/kg terhelés mellett az ALT és ALP aktivitás szignifikáns mértékű növekedését tapasztalták, ugyanakkor az AST és GGT aktivitásban nem volt statisztikailag igazolható változás.

El-Fetouh et al. (2016) napos kacsákkal indított kísérletükben 0,5 mg/kg takarmány eredetű OTA-terhelés mellett a vészérum ALT, AST és ALP aktivitásának növekedéséről számoltak be.

Az említett máj eredetű enzimek aktivitásának megemelkedett értékei a májszövet károsodásába és az enzimek véráramba ürülése miatt alakultak ki (Sawarkar et al., 2011). A fent említett publikációkkal ellentétben, az általunk alkalmazott 1 mg OTA/kg mikotoxin-terhelés a 14 napig tartó kísérlet időtartama alatt nem idézett elő statisztikailag igazolható emelkedést a vizsgált májeredetű enzimek aktivitásában, jelezve, hogy az alkalmazott ochratoxin koncentráció a kísérlet időtartama alatt nem okozott jelentős májkárosodást.

5. Következtetések és javaslatok

A diplomadolgozatomban bemutatott vizsgálat során ochratoxinnal szennyezett, illetve az ochratoxin terhelés mérséklése érdekében mikotoxinkötő anyaggal kiegészített, valamint biológiai detoxifikáláson átesett, alacsonyabb ochratoxin koncentrációjú takarmány etetésének brojlercsirkék vérplazmájának különböző klinikai biokémiai paramétereire gyakorolt hatását mértem fel.

Az Európai Unió által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket 10x-es mértékben meghaladó ochratoxin terhelés a mikotoxin expozíció 7. napjára markáns, statisztikailag igazolható különbséget eredményezett a kontroll csoporthoz képest a brojlercsirkék vérplazmájának összfehérje és globulin koncentrációjában egyaránt.

Az általunk kapott változások megerősítették a szakirodalomban (Sakthivelan és Rao, 2010; Qu et al., 2017; Gulfam et al., 2018) korábban közöltek.

Huff et al. (1988) szerint a vérplazma összfehérje és albumin koncentrációjának csökkenése az ochratoxikózis érzékeny indikátora. Az a mechanizmus, amellyel az OTA hipoproteinaemiát és hypoalbuminaemiát idéz elő, a fenilalanin által okozott fenilalanil-transzfer-RNS-szintetáz gátlásának köszönhető (Solcan et al., 2015). Más szerzők szerint az ochratoxikózis során kialakuló hipoproteinaemia a csökkent takarmányfelvételnek tudható be és/vagy a fehérje bioszintézisének csökkenése idézi elő, mivel az ochratoxin gátolja a máj fehérjeszintézisét (Prior et al., 1980; Raju és Devegowda, 2000).

Jóllehet több tanulmányban is olvasható (Sakhare et al., 2007; El-Fetouh et al., 2016) az ochratoxin terhelés hatására a vérplazma karbamid és húgysav koncentrációjának emelkedése, mely feltételezhetően az OTA által előidézett vesekárosodás következtében alakul ki, ilyen irányú változást a két hétig zajló kísérletünk során nem tapasztaltunk.

Feltételezhetően a viszonylag rövid expozíciós idő miatt, az EU által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket ugyan 10x-es mértékben meghaladó, de más, nagyobb OTA dózissal végzett vizsgálatától (Joo et al., 2013) elmaradó ochratoxin koncentráció mellett a kísérleti állatok vérplazmájában mért glükóz koncentráció a vizsgálat teljes időtartama alatt egyik mintavételi időpontban sem mutatott statisztikailag igazolható eltérést.

A koleszterin koncentráció csökkenése a brojlercsirkék vérében az OTA májkárosító hatásának egyik indikátora is lehet. A takarmány eredetű OTA-terhelés (4 mg/kg) a vér koleszterin koncentrációjának szignifikáns mértékű csökkenését idézte elő 21 napos brojlercsirkékben

(Huff et al., 1988). Stoev et al. (2000) szerint az OTA képes enyhe degeneratív változásokat okozni a hepatocitákban, ami következképpen a vér koleszterin koncentrációjának csökkenéséhez vezet.

Kísérletünkben a mikotoxin-terhelés 7. napján az ochratoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó csoport, valamint a dekontamináláson átesett takarmány fogyasztó csoport vérplazmájában mért koleszterin átlagértéke elmaradt a kontroll csoportban mért értéktől, míg az ochratoxinnal szennyezett takarmányt toxinkötővel együtt fogyasztó csoport átlagértéke kismértékben meghaladta azt.

A vérplazmában mért ásványi anyagok koncentrációjára a kísérletünk során alkalmazott ochratoxin dózis (1 mg/kg tak.) ellentétes irányú hatást gyakorolt. Nevezetesen a vérplazma anorganikus foszfor koncentrációjában csökkenés, míg kalcium koncentrációjában növekedés következett be.

A kísérletünkben alkalmazott 1 mg OTA/kg mikotoxin-terhelés a 14 napig tartó kísérlet időtartama alatt nem idézett elő statisztikailag igazolható emelkedést a vizsgált májeredetű enzimek aktivitásában, jelezve, hogy az alkalmazott ochratoxin koncentráció a kísérlet időtartama alatt nem okozott jelentős májkárosodást.

Javaslatom szerint célszerű lenne a takarmányok mikotoxin, így OTA szennyezettségének folyamatos ellenőrzése és a maximális javaslati érték alatt tartani a mikotoxin koncentrációt, hogy elkerüljük az ochratoxikózis során jelentkező kedvezőtlen változásokat a klinikai biokémiai paraméterekben.

Célszerű lenne az általam végzett kísérlet során alkalmazott dózis hatását tojótúyúkokban, vagy brojler szülőpárokban is megvizsgálni, mivel ezen állatok élettartama jellemzően hosszabb, így a felvett mikotoxinok hosszabb időn keresztül terhelik az állati szervezetet és a metabolizmusuk legfontosabb helyszínének számító májat.

Összefoglalóan megállapítható, hogy 28 napos brojlercsirkékkel lefolytatott, az EU által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket ugyan meghaladó, de más nagyobb dózissal végzett vizsgálatoktól elmaradó ochratoxin terhelés a viszonylag rövid expozíciós időn (14 nap) belül – a fehérje- és a zsír-anyagcsere néhány paraméterének alakulását leszámítva – nem váltott ki jelentős mértékű változást a vizsgált klinikai biokémiai paraméterek esetében.

A fehérje- és a zsír-anyagcsere néhány paraméterének (így az összfehérje, a globulin és a koleszterin koncentráció) kedvezőtlen változását viszont a mikotoxinkötő anyag (zeolit) alkalmazása kismértékben mérsékelni tudta.

6. Összefoglalás

A penészgombák gyakorlatilag minden takarmányféleségen megtelepedhetnek, és másodlagos anyagsere-termékeként olyan toxikus anyagokat, mikotoxinokat termelhetnek, amelyek más élőlényekre mérgező hatásúak. A mikotoxinokból rendszerint viszonylag kis mennyiség felvétele is elegendő a jellegzetes tünetek megjelenéséhez (Kállai 1978). A természetes toxinok, így a mikotoxinok elsősorban is a növénytermesztési és a tárolási folyamatok során keletkeznek. A szervezetbe jutva ezek a toxinok felhalmozódhatnak, átalakulhatnak, egymással kölcsönhatásba is léphetnek, ezzel megváltoztatva a normális életműködést, továbbá különböző kórfolyamatokat indíthatnak el (Banczerowski & Világi 2010). Az elmúlt évtizedekben jelentősen megnőtt annak a valószínűsége, hogy a környezetből származó káros behatások megzavarják az élő szervezetben a biológiai folyamatokat (Kovács 2010).

A diplomadolgozatomban ismertetett állatkísérlet célja az volt, hogy felmérje az Európai Unió által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket 10x-es mértékben meghaladó ochratoxin koncentrációjú, illetve az ochratoxin terhelés mérséklése érdekében mikotoxinkötő anyaggal (zeolittal) kiegészített, valamint biológiai detoxifikáláson átesett, alacsonyabb ochratoxin koncentrációjú takarmány etetése milyen hatást gyakorol brojlercsirkék vérplazmájában mért különböző klinikai biokémiai paramétereire.

A kísérletet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozásitani Intézet Takarmánybiztonsági Tanszék kísérleti telepén végeztem. A vizsgálathoz Cobb 540-es brojlercsirkéket használtunk (n=80), melyeket a Babádi Baromfikeltenő Kft-től szereztünk be napos korukban.

A kezelt csoportokkal etetett, mesterségesen mikotoxinnal szennyezett takarmányokhoz OTA tartalmú kukoricadara lett hozzákeverve. A kontrol csoport a szennyezetlen takarmányt kapta, míg két csoport (ochratoxinnal terhelt, ochratoxinnal terhelt és mikotoxinkötőt is tartalmazó) esetében a takarmány tervezett ochratoxin koncentrációja 1 mg OTA/kg volt. Az OTA terhelésben és mikotoxinkötő kezelésben együttesen részesült csoport esetében alkalmazott szervesetlen mikotoxinkötő az agyagásványok (alumino-szilikát-oxidok) közé sorolható zeolit volt, melyet 2 g/kg koncentrációban került bekeverésre. A harmadik kezelt csoport esetében az OTA-val szennyezett kukoricadara bakteriális dekontaminációt követően került bekeverésre.

A kísérlet a madarak 28. életnapján indult és két héten keresztül tartott. A kísérlet kezdetén két-két egyed lett véletlenszerűen kiválasztva minden csoportból (n=8), melyből hat egyed abszolút

kontrollként került mintavételre, mérlegelésre, majd exterminálásra. A vizsgálat csoportonként 18 egyeddel zajlott, melyből a vizsgálat 7. és 14. napján (a vizsgált egyedek 35. és 42. életnapján) csoportonként hat egyed került mintavételre, mérlegelésre, majd exterminálásra. Az egyes mintavételek alkalmával a madaraktól teljes vérmintát vettünk.

A vérvétel heparinnal ellátott vérvételi csövekbe történt, majd a levett vért a vörösvérsejtek hemolízisét elkerülve többször finoman összeforgattuk. A minták ezt követően hűtött környezetben a laboratóriumba kerültek (+4 °C), ahol 1500 fordulat/perc-en 10 percig centrifugáltuk őket abból a célból, hogy az alakos elemeket elválasszuk a vérplazmától. Az így nyert vérplazmát 1,5 ml-es Eppendorf csövekbe porcióztuk ki (1000 µl minta/cső).

A minták biokémiai analízise a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani Intézet Takarmánybiztonsági Tanszék biokémiai laboratóriumában lett elvégezve. A biokémiai vizsgálat során a vérplazmákból meghatározásra került néhány klinikai biokémiai paraméter, így az összfehérje, az albumin, a globulin, a húgysav, a karbamid, a glükóz, a koleszterin és triglicerid, valamint a kalcium és az anorganikus foszfor koncentráció, illetve egyes májeredetű enzimek (ALT, AST, GGT, LDH) aktivitása.

A kapott eredmények alapján elmondható, hogy az Európai Unió által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket 10x-es mértékben meghaladó ochratoxin terhelés a mikotoxin expozíció 7. napjára markáns, statisztikailag igazolható különbséget eredményezett a kontroll csoporthoz képest a brojlercsirkék vérplazmájának összfehérje és globulin koncentrációjában egyaránt. Az általunk kapott változások megerősítették a szakirodalomban korábban közölteket, miszerint a vérplazma összfehérje és albumin koncentrációjának csökkenése az ochratoxikózis érzékeny indikátora, melynek hátterében egyrészt a fenilalanil-transzfer-RNS-szintetáz gátlása, másrészt a csökkent takarmányfelvétel és/vagy a fehérje bioszintézisének csökkenése áll.

Jóllehet több tudományos közlemény is beszámol az ochratoxin terhelés hatására a vérplazma karbamid és húgysav koncentrációjának emelkedéséről, mely feltételezhetően az OTA által előidézett vesekárosodás következtében alakul ki, ilyen irányú változást a két hétig zajló kísérletünk során nem tapasztaltunk.

Feltételezhetően a viszonylag rövid expozíciós idő miatt, az EU által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket ugyan 10x-es mértékben meghaladó, de más, nagyobb OTA dózissal végzett vizsgálatról elmaradó ochratoxin koncentráció mellett a kísérleti állatok

vérplazmájában mért glükóz koncentráció a vizsgálat teljes időtartama alatt egyik mintavételi időpontban sem mutatott statisztikailag igazolható eltérést.

A kísérletünkben alkalmazott 1 mg OTA/kg mikotoxin-terhelés a 14 napig tartó kísérlet időtartama alatt nem idézett elő statisztikailag igazolható emelkedést a vizsgált májeredetű enzimek (AST, ALT, GGT) aktivitásában, jelezve, hogy az alkalmazott ochratoxin koncentráció a kísérlet időtartama alatt nem okozott jelentős májkárosodást.

Összefoglalóan megállapítható, hogy 28 napos brojlercsirkékkel lefolytatott, az EU által a keveréktakarmányokra vonatkozó maximális javaslati értéket ugyan meghaladó, de más nagyobb dózissal végzett vizsgálatoktól elmaradó ochratoxin terhelés a viszonylag rövid expozíciós időn (14 nap) belül – a fehérje- és a zsír-anyagcsere néhány paraméterének alakulását leszámítva – nem váltott ki jelentős mértékű változást a vizsgált klinikai biokémiai paraméterek esetében. A fehérje- és a zsír-anyagcsere néhány paraméterének (így az összfehérje, a globulin és a koleszterin koncentráció) kedvezőtlen változását viszont a mikotoxinkötő anyag (zeolit) alkalmazása kismértékben mérsékelni tudta.

8. Irodalomjegyzék

1. Agriopoulou S., Stamatelopoulou E., Varzakas T. (2020): Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. *MDPI Foods* 2020, 9, 137.
2. Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.S., Richmond, W., Fu, P.C. (1974): Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 20(4):470-475 p.
3. Babinszky L., Halas V. (Szerk) (2019): Innovatív takarmányozás. Akadémia Kiadó, Budapest, 996 p.
4. Bauer, P.J. (1981): Affinity and stoichiometry of calcium binding by arsenazo III. *Anal. Biochem.* 110(1): 61-72 p.
5. Bharathi, R., Pazhanivel, N., Balachandran, C., Raj, G. D. (2014): Effect of dietary ochratoxin on biochemical and antioxidant profile in broiler chickens. *Indian Journal of Poultry Science*, 49(3): 331-333.
6. Bowers, G.N. Jr, Bergmeyer, H.U., Hørder, M., Moss, D.W. (1979a): General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *ClinChimActa.* 98(1-2): 163F-174F
7. Bowers, G.N. Jr, Bergmeyer, H.U., Hørder, M., Moss, D.W. (1979b): International Federation of Clinical Chemistry. Committee on Standards. Expert Panel on Enzymes. Approved recommendation (1978) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1.
8. Brydl E. (Szerk.) (1987): A szarvasmarha anyagforgalmi betegségei és mérgezései. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 303 p
9. Bucolo, G., David, H. (1973): Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin. Chem.* 19(5):476-482 p.
10. Creppy, E.E., Lugnier, A.A.J., Fasiolo, F. (1979): In vitro inhibition of yeast phenylalanyl-tRNA synthetase by ochratoxin A. *Chemico-Biological Interactions*, 24(2), 257-261.
11. Cserhádi M. (2013): Mikotoxinok biodegradációjára képes mikroorganizmusok szelekciója és alkalmazása. Doktori értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő, 143 p
12. Daly, J.A., Erthinghausen, G. (1972): Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the "CentrifChem". *Clin. Chem.* 18(3): 263-265 p.
13. Deák T., Farkas J. Incze K. (1980): Konzerv-, hús- és hűtőipari mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 356 p.
14. Doumas, B.T., Watson, W.A., Biggs, H.C. (1971): Albumin standards and management of serum albumin with bromocresol green. *Clin. Chim. Acta* 31:87-96 p.
15. Elaroussi, M.A., Mohamed, F.R., El Barkouky, E.M., Atta, A.M., Abdou, A.M., Hatab, M.H. (2006) Experimental ochratoxicosis in broiler chickens. *Avian pathology: Journal of the W.V.P.A* 34, 263-269.
16. El-Fetouh, A.H., Heba, A., Halla, S., Ghada, E.K., Nahed, A.K. (2016): Pathological and biochemical studies on ochratoxicosis in balady duckling with trail of treatment. *Benha Vet. Med. J.* 31(1): 159-166.
17. Farooqui, M.Y., Khaliq, A., Rashid, M.A., Mehmood, S., Malik, M.I. (2019): Aluminosilicates and yeast-based mycotoxin binders: Their ameliorated effects on growth, immunity and serum chemistry in broilers fed aflatoxin and ochratoxin. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 49(4): 620-627.

18. Gajecka M., Zielonka L., Babuchowski A., Gajecka T. (2022): Exposure to Low Zearalenone Doses and Changes in the Homeostasis and Concentrations of Endogenous Hormones in Selected Steroid-Sensitive Tissues in Pre-Pubertal Gilts. *MDPI Toxins*, 14, 790, 18 p.
19. Galvano, F., Ritieni, A., Piva, A., Galvano, G. (2001): Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. *J. Food Prot.*, 64. 120-131.
20. Gulfam N, Zahoor M, Khisroom M, Khan FA (2018): In vivo detoxification of ochratoxin A by highly porous magnetic nanocomposites prepared from coconut shell. *Brazilian Journal of Poultry Science* 20(4): 675-698.
21. Harčárová, Michaela & Nad, Pavel & Zigo, Frantisek. (2023). Ochratoxin Incidence in Poultry Feed Mixtures. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*. 10, 6
22. Hassan, Z., Khan, M., Khan, A., Khatoon, A. (2012): Ochratoxicosis in White Leghorn hens:
23. Hivatkozások
24. Homonnay Zs., Karner I., Wöller L. (1977): Adatok a *Fusarium graminearum* által termelt F2 toxin tartalmú takarmány etetésének Cervidae fajok hímjeire gyakorolt hatásához. *Állattani Közlemény*, 64: 55-64.
25. Horváth Z. (Szerk) (1983): Szarvasmarha egészségútana. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 538 p.
26. Huff, W.E., Kubena, L.F., Harvey, R.B. (1988): Progression of ochratoxicosis in broiler chickens. *Poultry Science*, 67(8)1139–1146.
27. Huwig, A., Freimund, S., Kappeli, O., Dutler, H. (2001): Mycotoxin detoxification of animal feed by different absorbents. *Toxicol. Lett.*, 122. 179-188.
28. IFCC (1982): Recommendations for the measurement of LDH in human serum at 30 oC. (Commission Enzymologie de la Société Française de Biologie Clinique) *Ann. Biol. Chem.* 40: 163 p.
29. Jávorski, A., Szigeti, J. (2011). Termékminősítés és termékhygiéna. Debreceni Egyetem, Nyugatmagyarországi Egyetem, Pannon Egyetem.
30. Joo, Y.D., Kang, C.W. An, B.K., Ahn, J.S., Borutova, R. (2013): Effects of ochratoxin a and preventive action of a mycotoxin-deactivation product in broiler chickens. *Veterinarija ir Zootechnika* 61(83):22-29.
31. Kállai, Kralovánszky (1978): A takarmányozás biológiája. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, 420 p.
32. Konrad, I., Roesenthaler, R. (1977): Inhibition of phenylalanine tRNA synthetase from *Bacillus subtilis* by ochratoxin A. *FEBS Letters*, 83(2), 341-347.
33. Kovács, M. (2010) (Szerk.): Aktualitások a mikotoxin kutatásban. Agroiinform Kiadó, Budapest, 156.
34. Kubena, L. F., Huff, W. E., Harvey, R. B., Corrier, D. E., Phillips, T. D., Creger, C. R. (1988): Influence of ochratoxin A and deoxynivalenol on growing broiler chicks. *Poultry Science*, 67(2), 253-260.
35. Manning, R.O., Wyatt, R.D. (1984): Toxicity of *Aspergillus ochraceus* contaminated wheat and different chemical forms of ochratoxin A in broiler chicks. *Poultry Science*, 63(3) 458–465.
36. Mesterházy Á. (2007): Mikotoxinok a gabonatermesztésben: az élelmiszerbiztonsági kihívás. *Élelmiszerbiztonsági Közlemények*, 53. 38-48.
37. Mézes M. (Szerk) (2023): Takarmánytoxikológia. Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani Intézet Takarmánybiztonsági Tanszék, Budapest-Gödöllő, 96 p.
38. Nagy, Z., Kölber, M., Mézes, M. (2009): Adsorbensek a mikotoxin-szennyezett takarmányok kedvezőtlen hatásainak a csökkentésére. *Állattenyésztés és takarmányozás*, 2009. 58. 5. 477-488.

39. Oguz, H., Kececi, T., Birdane, Y.O., Onder, F., Kurtoglu, V. (2000): Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Res Vet Sci.* 69:89-93.
40. Pavlak, M., Kaufmann, C., Eyng, C., Cavalho, P., Pozza, P., Vieites, F., Rohloff, N., Avila, A., Polese, C., Nunes, R. (2023): Zeolite and corn with different compositions in broiler chickens feeding. *Poultry Science* 102:102494
41. Pozzo, L., Salamano, G., Mellia, E., Gennero, M.S., Doglione, L., Cavallarin, L., Tarantola, M., Forneris, G., Schiavone, A. (2013): Feeding a diet contaminated with ochratoxin A for chickens at the maximum level recommended by the EU for poultry feeds (0.1 mg/kg). 1. Effects on growth and slaughter performance, haematological and serum traits. *J Anim Physiol Anim Nutr* 97(Suppl 1):13-22.
42. Production and breeding performance. *Pakistan Vet. J.* 32, 57-61.
43. Qu, D., Huang, X., Han, J., Man, N. (2017): Efficacy of mixed adsorbent in ameliorating ochratoxicosis in broilers fed ochratoxin A contaminated diets. *Italian Journal of Animal Science*, 16(4), 573-579.
44. Raj, J., Vasiljevic, M., Farkas, H., Bosnjak-Neumüller, J., Manner, K. (2021): Effects of a modified clinoptilolite zeolite on growth performance, health status and detoxification of aflatoxin B1 and ochratoxin A in male broiler chickens. *British Poultry Science*, 62. 4, 601-610.
45. Raju, M., Devegowda, G. (2000): Influence of glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and hematology in broilers exposed to ochratoxin. *British Poultry Sci.* 41: 640-650.
46. Rodrigues, I., Naehrer, K. (2012) A three-year survey on the worldwide occurrence of mycotoxins in feedstuffs and feed. *Toxins*, 4, 663–675.
47. Sakhare, P., Harne, D., Warke, S., Kurkure, N. (2007): Effect of Toxiroak® polyherbal feed supplement during induced aflatoxicosis, ochratoxicosis and combined mycotoxicoses in broilers. *Vet. Arhiv.* 77, 129-146.
48. Sakthivelan, S.M., Rao, G.V.S. (2010): Effect of Ochratoxin A on Body Weight, Feed Intake and Feed Conversion in Broiler Chicken. *Veterinary Medicine International*, Article ID 590432, 4 pages
49. Sawarkar, A., Sonkusale, N., Ravikanth, K. (2011): Experimental ochratoxin induced mixed mycotoxicosis in broilers and its amelioration with herbomineral toxin binder ‘toxiroak gold. *Inter. J. Poultry Sci.* 10: 560-566.
50. Schaeffer, J.L., Tyczkowski, J.K., Hamilton, P.B. (1987): Alterations in carotenoid metabolism during ochratoxicosis in young broiler chickens. *Poultry Science* 66, 318-324.
51. Semenov, E.I., Mishina, N.N., Saitov, V.R., Perfilova, K.V., Kashevarov, G.S., Tanaseva, S.A., Idiyatov, I.I., Tarasova, E.Y., Matrosova, L.E., Shlyamina, O.V., Nasybullina, Z., Sharshov, K.A. (2021): Effect Of Bee Brood And Zeolite On Broiler Chickens Exposed By Mycotoxin T-2. *Nat. Volatiles & Essent. Oils*, 2021; 8(4): 3520-3531.
52. Solcan, C., Bocaneti, F., Fantanariu, M. (2015): Kidney myelolipoma and amyloidosis associated with lung osseous metaplasia in broiler chicken. *Pak Vet J.* 35:123–126.
53. Sugár L. (Szerk.) (2007): *Vadbetegségek. Mezőgazda Kiadó, Budapest*, 149 p.
54. Szasz, G. (1974): Gamma-glutamyltranspeptidase. In: Bergmeyer, H.U. (ed.) *Methoden der enzymatischen Analyse*. Weinheim: VerlagChemie, 757 p.

55. Szukács, G., Geösel, A. (2019): Mikotoxinok fenyegetése a gombatermesztésben. *Zöldségtermesztés, Kertgazdaság* 51(4):86-93.
56. Talke, H., Schubert, G.E. (1965): Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum in Optischen Test nach Warburg. *Klinische Wochenschrift* 43: 174-176 p.
57. Trinder, P. (1969): Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J. Clin. Pathol.* 22(2):158-161 p.
58. Trivedi, R.C., Rebar, R., Berta, E., Strong, L.J. (1978): New enzymatic method for serum uric acid at 500 nm. *Clin. Chem.* 24(11):1908-1911.
59. Varga J., Szigeti Gy., Baranyi N., Szekeres A., Kocsubé S. (2014): Mikotoxinok, Mikotxinogén gombák, Micetizmusok. Szeged 99p.
60. Várnagy L., (Szerk.) (2002): Állategészség védelem. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 336 p.
61. Veselý, D., Veselá, D. (1991): Use of chick embryos for prediction of embryotoxic effects of mycotoxins in mammals. [Article in Czech] *Vet Med (Praha)* 36(3):175-18.
62. Weichselbaum, T.E. (1946): An accurate and rapid method for the determination of protein in small amount of blood serum and plasma. *Amer. J. Clin. Path* 16:40-43 p.
63. Binder, E.M., Tan, L.M., Chin, L.J., Handl, J., Richard, J., (2007): Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science and Technology* 137, 265–282
64. Ferrufino-guardia, E.V., Tangni, E.K., Larondelle, Y. & Ponchaut, S. (2000): Transfer of ochratoxin A during lactation: exposure of suckling via the milk of rabbit does fed a naturally-contaminated feed. *Food Additives & Contaminants*, 17, 167–175.

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréseiről és eredetiségéről

A hallgató neve:	Plank Patrik
A hallgató Neptun kódja:	F2YL6G
A dolgozat címe:	Ochratoxinnal szennyezett takarmányok etetésének hatása brojlercsirkék klinikai biokémiai paramétereire
A megjelenés éve:	2023
A konzulens intézetének neve:	Élettani és Takarmányozástani Intézet
A konzulens tanszékének a neve:	Takarmánybiztonsági Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlanul állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Gödöllő, 2023. november 5.



Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Plank Patrik (hallgató Neptun azonosítója: F2YL6G) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védelemre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen / nem²

Kelt: Gödöllő, 2023. november 5.


belső konzulens

¹ A megfelelő alá húzandó.

² A megfelelő alá húzandó.