



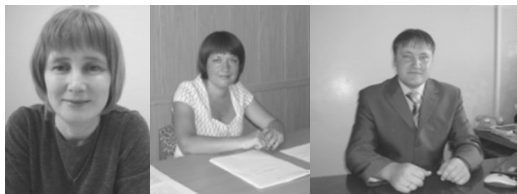
ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК 619:615.9:636.5

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДСОРБЕНТОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ МИКОТОКСИКОЗЕ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Танасева С.А. – к.б.н., ст. науч. сотр., Тарасова Е.Ю. – к.б.н., ст. науч. сотр., Матросова Л.Е. – д.б.н., зав. лаб. микотоксинов, Семенов Э.И. – д.в.н., г.н.с., ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

Ключевые слова: микотоксины, птица, адсорбенты, печень, аспартаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, малоновый диальдегид. **Key words:** mycotoxins, poultry, adsorbents, liver, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, malondialdehyde.



РЕФЕРАТ

Микотоксины являются одной из главных проблем в птицеводстве, существенно снижая продуктивность птицы, а также качество продукции, которую человек использует в пищу. На этом фоне актуален поиск и выбор препаратов профилактики, значительная часть которых представлена адсорбентами. Причем при контаминации кормов одновременно несколькими микотоксинами эффект от их комбинации значительно выше, чем от каждого по отдельности. Проведен эксперимент для определения влияния добавления в контаминированный микотоксинами (Т-2, зеараленон, афлатоксин В1) рацион птиц адсорбентов (шунгит/цеолит/глюканы 0,5% от рациона) на гистоструктуру и весовые характеристики печени, активность печеночных ферментов, остаточные количества в печени, как фактор напрямую влияющий на безопасность потребления куриной продукции человеком, а также состояние антиоксидантного статуса. В эксперименте использовано 60 бройлеров Кобб 500 обоего пола, живой массой 650–780 г., разделенных на три равные группы (по 20 цыплят в каждой группе). Опытный период составил 20 суток. Экспериментальное заражение кормов микотоксинами на фоне применения адсорбентов не привело к снижению живой массы цыплят, отмечена минимизация патологического влияния на функции печени и содержание печеночных ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартаминотрансферазы (АСТ). При исследовании образцов печени по содержанию остаточных количеств, полученные нами данные свидетельствуют о значительном снижении функциональной кумуляции Т-2 и афлатоксина В1. Таким образом, предложенный комплекс адсорбентов защищает здоровье птиц путем связывания микотоксинов в желудочно-кишечном тракте и является эффективной мерой в защите конечного потребителя куриной продукции – человека.

ВВЕДЕНИЕ

Микотоксины являются одними из наиболее вредных для здоровья человека и животных токсических агентов [2].

Проблемы в птицеводстве, вызванные микотоксинами, включают загрязнение зерновых, поэтому исследования в основном сосредоточены на тех токсинах, которые встречаются в таких кормах. К их числу относятся Т-2 токсин, ДОН (вомитоксин), зеараленон, охратоксин, фумонизин и афлатоксины.

Присутствие в кормах этих микотоксинов в зависимости от концентрации может не проявляться очевидными клиническими признаками, но необходимо принимать во внимание характерные признаки, которые выражаются поражением кишечника и других органов, в первую очередь печени; крови и кроветворных органов, нарушением иммунитета, а также снижением мясной и яичной продуктивности [4,5]. С продукцией птицеводства микотоксины могут попасть в продукты питания человека.

К микотоксинам чувствительна птица всех возрастов, но особенно растущий молодняк [1].

Широкий спектр микотоксинов, которые могут загрязнять корма одновременно, и различие их химической структуры делают задачу профилактики микотоксикозов сложной. Основная роль в профилактике микотоксикозов отводится применению энтеросорбентов [6-9]. Известно более 100 наименований энтеросорбентов, адсорбирующих или нейтрализующих микотоксины в организме домашней птицы. В последние годы актуальны исследования в области применения адсорбентов в комбинации, защищающие организм от токсического действия нескольких микотоксинов [10,11].

Поскольку микотоксикозы у птиц протекают малозаметно, а печень является органом-мишенью у микотоксинов, целью нашего исследования было изучение влияния комплекса микотоксинов (Т-2, зеараленон, афлатоксин В1) на структуру, функциональную активность печени, определение остаточных количеств микро-

токсинов в печени, а также состояние антиоксидантного статуса при комбинированном применении адсорбентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В условиях лаборатории микотоксинов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» проведены экспериментальные исследования на 60 цыплятах-бройлерах обоего пола, живой массой 650–780 г, разделенных на три равные группы по 20 цыплят в каждой. Схема опыта на птицах представлена в таблице 1.

В качестве энтеросорбентов использовали шунгит Зажогинского месторождения Республики Карелия и цеолит Шатраншанского месторождения Республики Татарстан, а так же дрожжевые глюканы. Токсичный корм получали введением в рацион кристаллических микотоксинов (Sigma, с чистотой микотоксинов 90-95%).

Кормление животных и наблюдение за ними вели в течение 20 суток. Для сравнительного учета влияния токсичного корма, в конце эксперимента провели взвешивание птиц и взятие крови. После убоя животных из каждой группы были взяты образцы проб печени.

Функциональное состояние печени оценивали по активности в крови гепатоспецифических ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) с использованием биохимического анализатора «Microlab 300» и проводили подсчет коэффициента Ритиса. Проводили определение содержания малонового диальдегида (МДА) в крови в реакции с тиобарбитуровой кислотой по общепринятой методике. [3].

Содержание микотоксинов в печени определяли согласно имеющимся нормативно-техническим документам, методами тонкослойной и жидкостной хроматографии (ТСХ и ВЭЖХ), с подтверждением результатов с помощью хромато-масспектрометрического анализа.

Материал для гистологических исследований опытных и контрольных животных размером не более 10х10х0,5 мм фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, обезвоживали в спиртах возра-

Таблица 1

Схема опыта на цыплятах-бройлерах

Группы	Особенности кормления
Биологический контроль	Основной рацион (ОР)
Токсический контроль (ТК)	Токсический корм (ТК) с микотоксинами Т-2 токсин 0,2 мг/кг+зеараленон 0,5 мг/кг+афлатоксин В ₁ 0,05 мг/кг
Профилактируемая группа	ТК и смесь адсорбентов (шунгит, цеолит и дрожжевые глюканы) 0,5%/кг корма

тающей крепости и заливали в парафин. Препараты депарафинировали, окрашивали гематоксилином и эозином и изучали в светооптическом микроскопе Leica DM 1000 с цифровой камерой Leica DFC 320 (Германия).

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Только при обеспечении животных качественными кормами можно получить высокий среднесуточный прирост живой массы, а так же безопасный конечный продукт.

В наших исследованиях выращивание бройлеров на комбикормах, загрязнённых микотоксинами (Т-2 токсин, зеараленон и афлатоксин В₁), привело к снижению живой массы. Так на конец опыта зарегистрировано достоверное снижение на 10,3% ($p < 0,05$). Очевидно также, снижение абсолютной и относительной массы печени, которое составило 20,8 ($p < 0,01$) и 15,1 % ($p < 0,05$) соответственно. При использовании смеси сорбентов статистически значимых различий эти показатели не имели.

По мнению многих исследователей, наличие микотоксинов в рационе одна из причин кормового стресса. При этом на фоне микотоксикоза потребление корма уменьшается, потребность в питательных веществах увеличивается, что впоследствии приводит к снижению яйценоскости и приростов живой массы.

На молекулярном уровне отрицательное действие стрессов – это образование

свободных радикалов, как ответная реакция организма. Однако при постоянном стрессе их количество увеличивается в несколько раз и организм не способен нейтрализовать избыток, что впоследствии приводит к нарушению мембран клеток. Поэтому в качестве маркера микотоксин индуцированного окислительного стресса, широко используемого как отечественными, так и зарубежными исследователями [2] изучали содержание одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – малонового диальдегида (МДА) в крови (рис.1).

Показано статистически достоверное повышение уровня МДА у цыплят-бройлеров группы токсического контроля на 22,2% ($p < 0,01$), в профилактируемой группе повышение было не таким значительным и составило 5,6%.

В результате связывания реактивных метаболитов с белками и липидами мембран происходит их перекисное окисление. Как результат – клетки не выполняют свои функции, тем самым нарушается работа и целостность органов и тканей.

Печень является основным барьером в организме на пути микотоксинов. При поражении печени ферменты из клеток вымываются в кровь, и активность их возрастает. Наибольшее диагностическое значение имеет определение активности аминотрансфераз (АЛТ и АСТ), и их соотношение (коэффициент Ритиса), которые позволяют чётко оценивать состояние печени и наличие возможных патологий этого органа. Влияние микотоксинов на ферменты печени представлено на рис. 2.

В группе токсического контроля наблюдается достоверное увеличение в

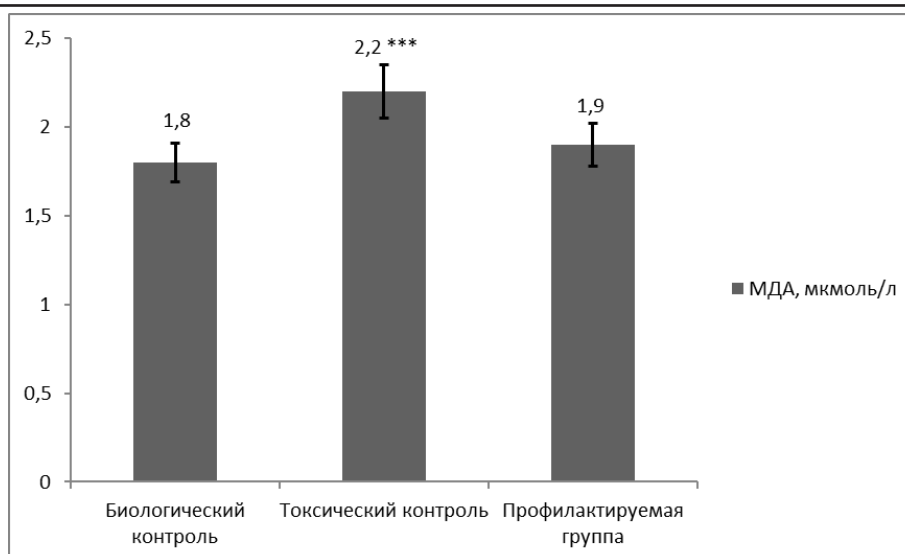


Рис. 1. Содержание МДА в крови подопытных животных
*, **, *** Различия с контролем статистически значимы при $P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$ и $P \leq 0,001$

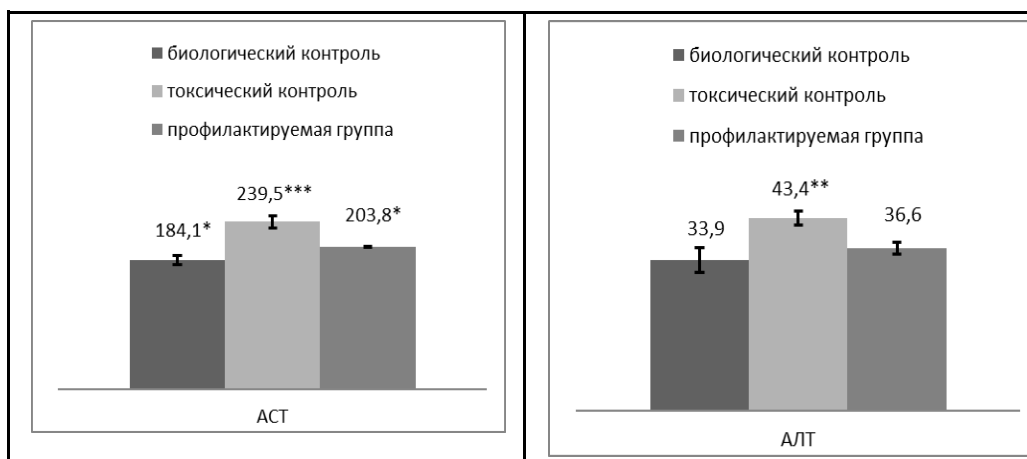


Рис. 2. Показатели аминотрансфераз в сыворотке крови цыплят-бройлеров
*, **, *** Различия с контролем статистически значимы при $P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$ и $P \leq 0,001$

сыворотке (относительно биологического контроля) уровня активности печеночных ферментов, выделяющихся в кровь при разрушении гепатоцитов: так АСТ и АЛТ во второй группе увеличивались на 30,1 ($p < 0,001$) и 28,1 % ($p < 0,01$) соответственно. Использование комплекса адсорбентов способствовало повышению аспартат-

и аланинаминотрансфераз в меньших пределах - 10,7% ($p < 0,05$) и 8,1% соответственно. При этом значения изменения коэффициента Ритиса не превышали статистическую погрешность и составили в первой группе - 5,43; второй - 5,51; третьей - 5,56. Однако считаем, что под воздействием происходило достоверное уве-

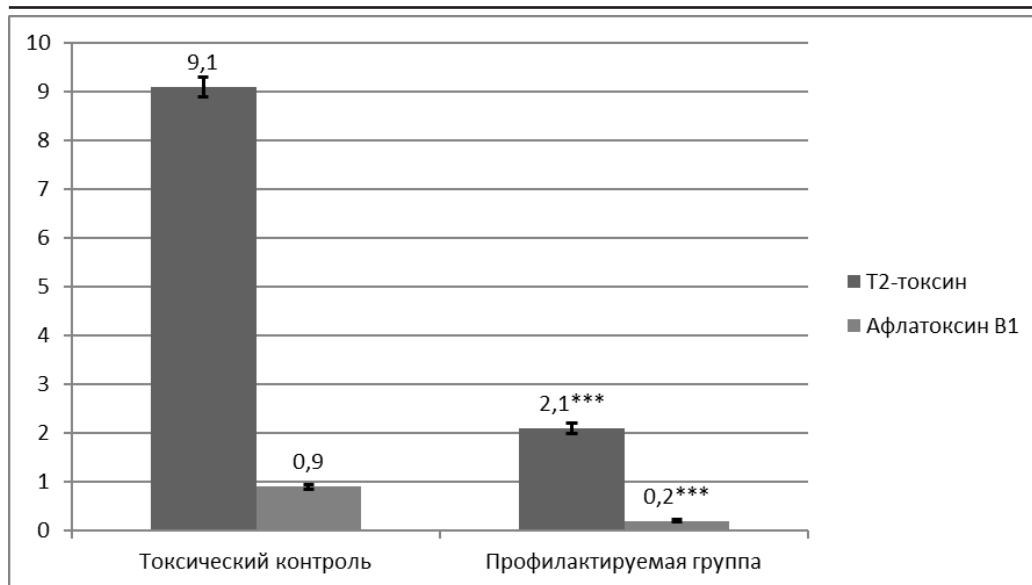


Рис. 3. Остаточные количества (мкг/кг) микотоксинов в печени цыплят-бройлеров
*, **, *** Различия с контролем статистически значимы при $P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$ и

личение активности гепатоспецифических ферментов, указывающее на токсическое поражение гепатоцитов, что подтверждено гистологическими исследованиями.

Гистологические исследования печени показали, что у цыплят-бройлеров токсического контроля развиваются хорошо выраженные патологические процессы, сопровождающиеся перераспределением гепатоцитов в дольке, появлением безъядерных гепатоцитов и повреждением клеток в виде зернистой дистрофии. Измененные гепатоциты содержат зернистые гранулы эозинофильного цвета. При использовании адсорбентов такие изменения не наблюдались. В этом случае были выявлены единичные (в одном, двух полях зрения среза при малом увеличении) участки в области портальных трактов, где волокна соединительной ткани были утолщены и между ними располагались скопления гомогенных эозинофильных масс, что могло свидетельствовать о небольшом отеке стромы. У цыплят биологического контроля гепатоциты имели четкие контуры, хорошо различимое базофильное ядро. Купферовские клетки

были такого же размера и формы, как в норме.

Микотоксины и их метаболиты всасываются в кишечнике и накапливаются в тканях-мишенях. Учитывая тот факт, что накопление микотоксинов больше всего происходит в печени, следующим этапом исследования послужило определение содержания остаточных количеств микотоксинов (Т-2, зеараленона и афлатоксина В1) в печени птиц токсического контроля и профилактируемой группы. Уровень содержания микотоксинов в печени бройлеров показан на рис.3.

При исследовании образцов печени выявили, что ежедневное введение с кормом микотоксина зеараленона не привело к накоплению в печени. Однако, что касается Т-2 токсина, содержание было ниже на 76,9% ($p < 0,001$) в группе с применением адсорбентов, афлатоксина В1 – 77,8% ($p < 0,001$) соответственно. Содержание микотоксинов в печени профилактируемой группы достоверно уменьшалось относительно группы токсического контроля. Полученные нами данные свидетельствуют о значительном снижении

функциональной кумуляции Т-2 и афлатоксина В1 за счет введения в рацион микотоксиновых связующих.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные данные указывают, что хроническое поступление микотоксинов вызывает функциональные нарушения и морфологические изменения в печени. Как следствие угнетение продуктивности, снижение качества продукции, употребляемого человеком и убытки для птицеводческих предприятий. При добавлении в рацион комплекса адсорбентов (цеолита, шунгита и глюкоана) негативное воздействие микотоксинов на структуру и функциональные свойства печени значительно снижается, тем самым сохраняется продуктивность птицы и качество продуктов бройлерного производства. Использование комплекса предложенных нами адсорбентов создает меньшую экономическую нагрузку для птицеводов.

THE EFFICIENCY OF ADSORBENTS IN BROILER CHICKENS WITH COMPLEX MYCOTOXICOSIS

Tanaseva S.A. - Candidate of biological Sciences, Senior researcher, Tarasova E.Yu. - Candidate of biological Sciences, Senior researcher, Matrosova L.E. - Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Mycotoxins, Semenov E.I. - Doctor of Veterinary Sciences, Chief Research Fellow, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

ABSTRACT

The issue of mycotoxins is one of the main problems in poultry farming. They significantly reduce the productivity and the quality of products used as human food. This ground maintains the search for and selection of preparation for prevention of diseases, the large part of these was presented by adsorbents. Moreover, when contaminating the feeds with several mycotoxins simultaneously, the efficiency of the combination are much higher than if separately. The experiment conducted determined the impact of supplementing adsorbents in poultry feed contaminated mycotoxins (T2, zearalenone, aflatoxin B1) on the histostructure and weight characteristics of liver, liver enzyme

activity, residual amount in liver, as factors directly affecting the safety of consumption of chicken products and the state antioxidant status. The experiment included 60 Kobb 500 broilers of both genders with body weight 650-780 g, divided into three equal groups (20 chickens in each group). Experimental period was 20 days. The research feed contamination with mycotoxins after the use of adsorbents have led to no reduction in body weight of chickens, reduced pathological effects on liver functions and content of liver enzymes: the content of ALAT and ASAT. When studying the liver samples regarding the content of residual amounts, the data obtained indicates considerable decrease of the functional cumulating of T2 and aflatoxin B1. Thereby, proposed complex of adsorbents is considered protective for health of poultry by deactivation of mycotoxins in contaminated feed and effective measure in protection of ultimate *consumer of chicken production – the human.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов, А.А. Проблема микотоксикозов в птицеводстве / А.А. Иванов, Э.И. Семенов, И.М. Егоров // Ветеринарный врач. – 2013. - №1. – С.2-5.
2. Иванов, А.В. Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты) / А.В. Иванов, В.И. Фисинин, М.Я. Трemasов, К.Х. Папуниди. - М.: Колос, 2010. - 392 с.
3. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И.П. Кондрахин – М.: Колос, 2004. – 520 с.
4. Мишина, Н.Н. Влияние комплекса цеолита и шунгита на резистентность и продуктивность цыплят-бройлеров при смешанном микотоксикозе / Н.Н. Мишина, Э.И. Семенов, К.Х. Папуниди [и др.]. // Ветеринарный врач. - 2018. - №6. - С. 3-9.
5. Сапринская, Н.В. Клинические и патоморфологические изменения при спонтанном ассоциированном Т-2 и аспергиллотоксикозе кур / Н.В. Сапринская, И.Ю. Домницкий, В.А. Агольцов // Научная жизнь. – 2016. - №8. – С. 27-39.
6. Тарасова, Е.Ю. Изучение сорбционной активности потенциальных средств профилактики микотоксинов в отношении

афлатоксинов / Е.Ю. Тарасова, Э.И. Семенов, Л.Е. Матросова [и др.]. // Ветеринарный врач. – 2020. - №2. – С. 51-58.
7.Тарасова, Е.Ю. Поиск эффективных адсорбентов Т-2 токсина / Е.Ю. Тарасова, Э.И. Семёнов, А.Р. Валиев, Л.Е. Матросова // Вестник Марийского государственного университета. серия: сельскохозяйственные науки. экономические науки. – 2019. - №3. – С. 322-329.
8.Тремасова, А.М. Перспективы применения шунгита в токсикологии / А.М. Тремасова, В.И. Дорожкин, К.Х. Папуниди // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2014. - №3. –С. 49-51.
9.Фисинин, В.И. Природные минералы в кормлении животных и птицы / В.И. Фи-

синин, П.Ф. Сурай // Животноводство России. – 2008. - №8. – С.66-69.

10.Matrosova, L.E. Enterosorbent efficiency mineral attenuation during pig mycotoxicosis / L.E. Matrosova, N.N. Mishina, S.A. Tanaseva [et al.]. // International Journal of Mechanical and Production Engineering Research and Development (IJMPERD). – 2020. - Vol. 10. – P. 1851–1856.

11.Matrosova, L. Zeolite, hepatoprotector and probiotic for aflatoxicosis in pigs / L.E. Matrosova, S.A. Tanaseva, E.Ya. Tarasova [et al.]. // International Journal of Mechanical and Production Engineering Research and Development (IJMPERD). – 2020. - Vol. 10. - P. 7053-7060.

ИНФОРМАЦИЯ

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35,
Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49**