

УДК: 619:612.017.4:636.4:544.723.21:34

КОРРЕКЦИЯ КИШЕЧНОГО БИОЦЕНОЗА ПОРОСЯТ ПРИ МИКОТОКСИКОЗЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТАМИ

Матросова Л.Е. – д. б. н., зав. лаб. микотоксинов, Ермолаева О.К. – к.б.н., ст. науч.сотр., Тарасова Е.Ю. – к. б. н., ст. науч. сотр., Танасева С.А. – к. б. н., вед.науч. сотр., Мишина Н.Н. – к. б. н., вед. науч. сотр., Семёнов Э.И. – д. вет. н., глав.науч.сотр.
ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

Ключевые слова: микотоксин, Т-2 токсин, дезоксиниваленол, зеараленон, микотоксикоз, свиньи, адсорбенты, желудочно-кишечный тракт, микрофлора. **Key words:** mycotoxins, T-2 toxin, deoxynivalenol, zearalenone, mycotoxicosis, pigs, adsorbents, gastrointestinal tract, microflora.



РЕФЕРАТ

Существенную опасность для здоровья животных и человека представляют микроскопические грибы. Это связано с их способностью вырабатывать микотоксины, которые сохраняются на протяжении всей пищевой цепи из-за их устойчивости к широкому спектру факторов окружающей среды и технологических обработок. Патогенное действие микотоксинов включает угнетение роста, гепатотоксичность, нефротоксичность, канцерогенность, мутагенность, тератогенность и цитотоксичность. Кишечный тракт является первым барьером в организме против проникновения загрязняющих веществ. Микробиота кишечника может варьировать в пределах одного вида, поэтому можно наблюдать различные реакции на микотоксин. Высокие концентрации загрязняющих веществ, таких как микотоксины, могут привести к повреждению слизистой оболочки кишечника. В статье представлен анализ кишечного биоценоза поросят при микотоксикозе на фоне применения энтеросорбентов минерального и органического происхождения (Зажогинский шунгит, Шатрашанский цеолит, растительные бета-глюканы). Экспериментальные исследования проведены на 16 поросятах-отъемышах крупной белой породы 70 суточного возраста, разделенных на 4 равные группы. Кормление животных и наблюдение за ними вели в течение 60 суток. Токсичный корм получали введением в рацион микотоксинов: Т-2 токсин (0,2 мг/кг), зеараленон (1 мг/кг), дезоксиниваленол (0,5 мг/кг).

Проведенные исследования кишечного микробиоценоза у животных при микотоксикозе показали снижение концентрации бифидобактерий и лактобактерий, возрастание дрожжевых грибов, кишечной палочки, появление сальмонелл и эшерихий, обладающих гемолитической активностью.

Установлено, что используемые в эксперименте энтеросорбенты положительно влияли на микробиоценоз кишечника животных и минимизировали отрицательное действие микотоксинов на органы желудочно-кишечного тракта.

ВВЕДЕНИЕ

Большой проблемой в животноводстве является поражение кормов токсигенными изолятами микроскопических грибов (*Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. и др.), продуцирующих при определенных условиях токсичные метаболиты -

микотоксины. Микотоксины отрицательно влияют на организм животных и птиц, снижают прирост массы тела, нарушают иммунный статус и репродуктивную функцию, снижают пищевую и биологическую ценность мяса [2,6,7]. Т-2 токсин, зеараленон, охратоксин, афлатоксины,

дезоксиниваленол, фумонизины могут нарушать функцию механического барьера слизистой оболочки кишечника и целостность тканей кишечного эпителия [19]. Микотоксины могут также вызывать повреждение иммунной барьерной функции слизистой оболочки кишечника [16]. При этом наблюдается аддитивный и синергический эффект, демонстрируемый большинством комбинаций микотоксинов [12].

Кроме того, микотоксины могут негативно влиять на микрофлору желудочно-кишечного тракта [10,15].

Настоящее исследование имеет большое значение, поскольку, существует необходимость поиска доступных и дешевых адсорбентов в качестве средств обеззараживания кормов, загрязненных микотоксинами. Микотоксины нарушают баланс микробиоты кишечника и, тем самым, нарушают регуляцию функций кишечника, снижают местный иммунный ответ, что в конечном итоге может привести к системной токсичности. Восстановить баланс кишечной микробиоты можно с помощью введения адсорбентов, обладающих способностью снижать уровень микотоксинов [8,9].

Минеральные адсорбенты обладают потенциалом для улучшения барьерной функции кишечника, усвояемости питательных веществ и роста животных, что может быть связано с изменением микробиоты кишечника [1,17]. Адсорбенты используются для смягчения микотоксикоза путем прямого снижения биодоступности микотоксинов и, следовательно, косвенного снижения воспалительной реакции, улучшения здоровья кишечника и предотвращения окислительного стресса [18]. Органические адсорбенты, такие как дрожжевая клеточная стенка и углеводы на основе водорослей, показали, что содержащиеся в их составе β -D-глюканы и трехмерная сеть способны химически адсорбировать микотоксины *in vitro*, снижать их абсорбцию в тонком кишечнике [20], уменьшать накопление в конкретных органах [11], тем самым, защищая жизненно важные органы. Таким обра-

зом, предполагается, что добавление адсорбентов может смягчить неблагоприятные эффекты рационов свиней, естественно загрязненных микотоксинами, и, к тому же, выполняют функцию пребиотиков, улучшая естественную микрофлору кишечника [14].

Цель исследований – коррекция кишечного биоценоза поросят при микотоксикозе энтеросорбентами минерального и органического происхождения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали энтеросорбенты минерального и органического происхождения (Забогинский шунгит, Шатрашанский цеолит, растительные бета-глюканы).

Опыты проведены на 16 поросятах-отъемышах крупной белой породы 70 суточного возраста, разделенных по принципу аналогов на 4 группы:

Первая группа - биологический контроль (основной рацион);

Вторая группа - основной рацион + смесь микотоксинов (Т-2 токсин 0,2 мг/кг, зеараленон 1 мг/кг, дезоксиниваленол 0,5 мг/кг);

Третья группа - в контаминированный комбикорм, путем тщательного перемешивания, вносили энтеросорбенты в дозе 0,25 % от рациона: смесь минеральных сорбентов – шунгит и цеолит 30/70;

Четвертая группа - контаминированный рацион, смесь шунгита и цеолита (30/70) и 0,05% растительного бета-глюкана в дозе 0,25 %.

Продолжительность эксперимента составила 60 суток. Задавали корма, искусственно контаминированные микотоксинами, которые были получены с использованием грибов-продуцентов (*Fusarium sporotrichiella* и *Fusarium graminearum*). Исследование кишечного биоценоза проводили согласно методическим указаниям [5].

Микрофотосъемку гистологических препаратов проводили в проходящем свете с использованием микроскопа Leica DM 1000, камера Leica DFC 320 (Япония). Статистическая обработка экспериментальных данных проводили в соответ-

ствии с требованиями, приведенными в нормативных документах [3,4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Потребление животным корма, содержащего Т-2 токсин, зеараленон и дезоксиниваленон, вызывает токсическое действие. Наряду с нарушением клинического и иммунного статуса, гематобioхимических показателей, патоморфологическими изменениями в паренхиматозных органах у поросят регистрировали качественные и количественные изменения в кишечном биоценозе.

Проведенный микробиологический анализ содержимого толстого отдела кишечника показал снижение содержания нормофлоры (бифидобактерий и лактобактерий), возрастание дрожжевых грибов, кишечной палочки, появление сальмонелл и эшерихий, обладающих гемолитической активностью. Количество лактобактерий и бифидобактерий в токсичной группе составило $4,0 \pm 0,07$ и $6,2 \pm 0,09$ lg КОЕ/г, что ниже, чем в группе биологического контроля на 16,7 ($P < 0,05$) и 21,5% ($P < 0,01$) соответственно. Регистрировали снижение на 15,4 % ($P < 0,05$) количества кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью. Содержание кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью в группе токсического контроля составило $6,5 \pm 0,01$ lg КОЕ/г, биологического контроля - $7,5 \pm 0,02$ lg КОЕ/г.

Концентрация дрожжевых грибов была выше, чем в группе биологического контроля на 10,4% соответственно. Содержание гемолитической кишечной палочки составило $4,0 \pm 0,02$ lg КОЕ/г, сальмонелл - $3,9 \pm 0,05$ lg КОЕ/г (при отсутствии в группе биологического контроля).

Внесение в токсичный рацион смеси энтеросорбентов (шунгит+цеолит) способствовало улучшению микрофлоры кишечника. Уровень лактобактерий и бифидобактерий при получении шунгита и цеолита был ниже, чем в группе биологического контроля на 8,3 и 8,9% соответственно. Содержание кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью

и дрожжевых грибов было выше, чем в группе биологического контроля на 11,1 и 5,1%, соответственно. Количество эшерихий, обладающих гемолитической активностью, составило $1,0 \pm 0,01$ lg КОЕ/г, сальмонелл - $1,7 \pm 0,03$ lg КОЕ/г.

В 4 группе содержание лактобактерий и бифидобактерий было ниже, чем в группе биологического контроля на 12,5 и 13,9% соответственно. Содержание кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью составило $7,2 \pm 0,04$ lg КОЕ/г, что выше, чем в группе биологического контроля на 10,7 %. Уровень дрожжевых грибов был выше, чем в контроле на 10,1%. Сальмонеллы и гемолитические эшерихии не обнаружили.

Общее количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных бактерий у животных всех групп находилось на уровне $6,3-6,72$ lg КОЕ/г.

В срезах кишечника и желудка поросят, получавших только загрязненный микотоксинами корм, наблюдали признаки некроза секреторных клеток, инфильтрацию стенок лимфоцитами.

В профилактируемых группах не были обнаружены некрозы секреторных клеток кишечника, однако имелись признаки его десквамации. Стенки кишечника и желудка были инфильтрированы лимфоидными клетками.

Длительное потребление животными кормов, загрязненных микотоксинами, вызывает хронический микотоксикоз, что, в конечном итоге, приводит к дисбактериозу кишечника. Нарушение микробного баланса в кишечнике сопровождается уменьшением количества полезных бактерий и ростом патогенов. Восстановление баланса микробиоты кишечника с помощью приема энтеросорбентов может снизить патологические эффекты при микотоксикозе.

Результаты наших исследований подчеркивают важное значение взаимодействия микотоксинов с кишечником и кишечной микробиотой. Поглощение микотоксинов и последующее тканевое распределение регулируются всасыванием в желудочно-кишечном тракте, а присут-

ствие микробиоты в желудочно-кишечном тракте может влиять на кишечный барьер, вызывая различную биодоступность микотоксинов.

Несмотря на это, необходимы дополнительные исследования для выяснения взаимодействия между микробиотой кишечника и микотоксином и последствий такого взаимодействия для профилактики/лечения микотоксикозов.

ВЫВОДЫ

Желудочно-кишечный тракт - система органов, которая отвечает за прием пищи, пищеварение, поглощение энергии и питательных веществ, иммунный ответ, а также выведение экскрементов. Это первые органы, которые вступают в контакт с пищей и подвергаются воздействию загрязняющих веществ, в том числе, и микотоксинов [12]. Высокие концентрации микотоксинов могут привести к повреждению слизистой оболочки кишечника и нарушению кишечного биоценоза. Комбинация минералов цеолита, шунгита и органического сорбента на основе β -глюканов, способствовала коррекции микробиоценоза при микотоксикозах.

Correction of intestinal biocenosis in piglets during mycotoxicosis caused by enterosorbents. Matrosova L.E., Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of mycotoxins, Ermolaeva O.K., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Tarasova E.Y., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Tanaseva S.A., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Mishina N.N., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Semenov E.I., Doctor of Veterinary Sciences, Chief Researcher, FSBSI «Federal Center for Toxicological, Radiation and biological Safety»

ABSTRACT

Microscopic fungi pose a significant danger to animal and human health, because their ability to produce mycotoxins are highly toxic, mutagenic, teratogenic and carcinogenic. The intestinal tract is the first defense of the organism against the ingress of contaminants. The gut microbiota can vary within a species, so different responses to mycotoxin can be observed. High concentrations

of contaminants such as mycotoxins can damage the intestinal mucosa. The article reports the analysis of the intestinal biocenosis of piglets with mycotoxicosis after the use of enterosorbents of mineral and organic origin (shungite from the Zazhoginsky deposit, the Republic of Karelia, zeolite from the Shatrashansky deposit, the Republic of Tatarstan, plant beta-glucans). Experimental research were carried out on 16 piglets-weaners of large white breed of 70 days of age, divided into 4 equivalent groups. The animals were fed and monitored for 60 days. The toxic food was obtained by introducing into the diet the mycotoxins: T-2 toxin (0,2 mg/kg), zearalenone (1 mg/kg), deoxynivalenol (0,5 mg/kg). Studies of intestinal microbiocenosis in animals with mycotoxicosis showed a decrease in the concentration of bifidobacteria and lactobacilli, an increase in yeast fungi, *Escherichia coli*, the appearance of *Salmonella* and *Escherichia*, which have hemolytic activity.

The research provides that the correction of the intestinal biocenosis with enterosorbents contributed to the normalization of the intestinal biocenosis of animals with mycotoxicosis.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Бородулина, В.И. Влияние различных дозировок адсорбента микотоксинов «Фунгинорм» на микрофлору кишечника свиней на откорме / В.И. Бородулина, Н.А. Садовиков // Животноводство и ветеринарная медицина. - 2018. - № 4. - С. 3-6.
- 2.Ветеринарная микология: учебное пособие / А.Ф. Кузнецов. 2-е изд., испр. и доп. М.: Университеты России, 2017.— 417 с.
- 3.ГОСТ 34100.1-2017/ ISO/IEC Guide 98-1:2009. Неопределенность измерения. Введение в руководства по выражению неопределенности измерения. М.: Стандартинформ. 2018. 28 с.
- 4.ГОСТ Р 8.736-2011. Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. М.: Стандартинформ. 2013. 24 с.
- 5.Методические рекомендации «Выделение и идентификация бактерий

- желудочно-кишечного тракта животных», утверждённые Департаментом ветеринарии МСХ РФ №13-5-02/1043 от 11 мая 2004 г. – 84 с.
6. Мишина, Н.Н. Коррекция ростовесовых показателей свиней энтеросорбентами при полимикотоксикозе / Н.Н. Мишина, А.Ф. Хасиятуллин, Р.М. Потехина [и др.]. // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. - 2020. - №22. - С. 468-470.
7. Мухарлямова, А.З. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса поросят при афлатоксикозе и на фоне лечения / А.З. Мухарлямова, А.М. Тремасова // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. - 2020. - № 22. - С. 474-476.
8. Папуниди, К.Х. Применение энтеросорбентов в животноводстве / К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, А.А. Иванов [и др.]. // Ветеринарный врач. -2010. - №5. - С. 20-22.
9. Применение сорбентов для профилактики нарушения обмена веществ и токсикозов животных / К.Х. Папуниди, Э.И. Семёнов, И.Р. Кадиков [и др.]. монография. Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2018. 224 с.
10. Шамилова, Т.А. Применение пробиотика энтероспорина в свиноводстве при микотоксикозе / Т.А. Шамилова, Л.Е. Матросова, М.Я. Тремасов [и др.]. // Ветеринария. – 2013. - №5. – С. 24-26.
11. Firmin, S. Modification of aflatoxin B1 and ochratoxin A toxicokinetics in rats administered a yeast cell wall preparation / S. Firmin, P. Gandia, D.P. Morgavi [et al.]. // Food Addit. Contam. Part A. – 2010. – Vol. - 27. P. 1153–1160.
12. Gao, Y.N. Aflatoxin M1 cytotoxicity against human intestinal Caco-2 cells is enhanced in the presence of other mycotoxins / Y.N. Gao, J.Q. Wang, S.L. Li // Food Chem. Toxicol. - 2016. – Vol.96. - P. 79–89.
13. Grenier, B. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: Meta-analysis of published experiments in animals / B. Grenier, T.J. Applegate // Toxins. – 2013. - Vol.5. - P. 396–430.
14. Kim, S.W. Efficacy of a yeast cell wall extract to mitigate the effect of naturally co-occurring mycotoxins contaminating feed ingredients fed to young pigs: impact on gut health, microbiome, and growth / S. W. Kim, D. M. Holanda, X. Gao [et al.]. // Toxins. – 2019. – Vol.11. – P. 633.
15. Piotrowska, M. The effect of experimental fusarium mycotoxicosis on microbiota diversity in porcine ascending colon contents / M. Piotrowska, K. Slizewska, A. Nowak [et al.]. // Toxins. – 2014. - Vol.6. - P. 2064–2081.
16. Taranu, I. Assessment of the efficacy of a grape seed waste in counteracting the changes induced by aflatoxin B1 contaminated diet on performance, plasma, liver and intestinal tissues of pigs after weaning / I. Taranu, D.E. Marin, M. Palade [et al.]. // Toxicon. - 2019. – P. 24–31.
17. Wang, J.P. Effects of montmorillonite clay on growth performance, nutrient digestibility, vulva size, faecal microflora, and oxidative stress in weaning gilts challenged with zearalenone / J.P. Wang, F. Chi, I.H. Kim // Anim. Feed. Sci. Technol. - 2012. – Vol.178. – P. 158–166.
18. Weaver, A. Protective effect of two yeast based feed additives on pigs chronically exposed to deoxynivalenol and zearalenone / A. Weaver, M. See, S. Kim // Toxins. - 2014. - Vol.6. - P.3336–3353.
19. Yanan, G. The Compromised intestinal barrier induced by mycotoxins / G. Yanan, Lu Meng, L. Huimin [et al.]. // Toxins. – 2020. – Vol. 12(10). – P. 619.
20. Yiannikouris, A. Comparison of the sequestering properties of yeast cell wall extract and hydrated sodium calcium aluminosilicate in three in vitro models accounting for the animal physiological bioavailability of zearalenone / A. Yiannikouris, H. Kettunen, J. Apajalahti [et al.]. // Food Addit. Contam. Part A. - 2013. - Vol.30. - P.1641–1650.