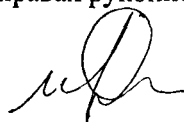


На правах рукописи



ВАЛИУЛЛИН ЛЕНАР РАШИТОВИЧ

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
ЗЕАРАЛЕНОНА И Т-2 ТОКСИНА НА ЖИВОТНЫХ И ИЗЫСКАНИЕ
ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Казань – 2008

Работа выполнена в Федеральном государственном учреждении «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (г. Казань).

Научный руководитель: Доктор биологических наук, профессор
Тремасов Михаил Яковлевич

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук
Тарасова Наталья Борисовна

Доктор ветеринарных наук, профессор
Софронов Владимир Георгиевич

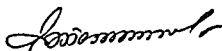
Ведущее учреждение: Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии (ВНИИВСГЭ) г. Москва.

Защита состоится «10» *февраля* 2009 г. в 13⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (420075, г. Казань, Научный городок - 2, ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань)

Автореферат разослан «31» *января* 2008г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук

 В.И. Степанов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. Высокие темпы роста населения в мире требуют увеличения производства продукции сельского хозяйства. Особенностью интенсивного животноводства и кормопроизводства является проблема микотоксикозов животных, представляющая собой как экономическую, так и экологическую опасность.

Токсигенные плесневые грибы и продуцируемые ими микотоксины поражая корма, вызывают у сельскохозяйственных животных и птицы комплексные отравления различной степени - от острой до хронической. В мире насчитывается более 300 микотоксинов, оказывающих токсическое действие на млекопитающих и птицу, но их количество постоянно растёт (Монастырский О.А., 2006).

В связи с широким распространением в природе, особую опасность представляют микотоксины микроскопических грибов из рода *Fusarium* зеараленон, Т-2 токсин, ДОН и др. (Смирнов А.М. и др., 1999; Кузнецов А.Ф., 2001; Тремасов, М.Я. 2002; Кононенко Г.П., Буркин А.А., 2008).

Одним из факторов, увеличивающих опасность загрязнения микотоксинами кормов, является возможное сочетание их с другими микотоксинами (Котик А.Н., 1999; Иванов А.В. и др., 2008). В таких случаях содержание в кормах отдельных микотоксинов может быть ниже пределов обнаружения или они обнаруживаются в малых дозах (Захарова Л.П. и др., 2008). Причём потенциальную опасность сочетанных микотоксикозов сегодня явно недооценивают. Важной проблемой ветеринарной микотоксикологии является изучение смешанных микотоксикозов животных и их профилактика (Антипов В.А. и др., 2007; Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х. и др., 2008).

Таким образом, учитывая вышеизложенные данные, поиск и разработка эффективных, доступных средств для профилактики микотоксикозов животных, получения качественных продуктов животного происхождения являются актуальной проблемой.



1.2. Цель и задачи исследования. Целью наших исследований было изучение токсичности зеараленона и Т-2 токсина, как при отдельном, так и комбинированном поступлении и влияния их на животных, поиск эффективных профилактических средств при отравлении этими микотоксинами.

1.3. На решение были поставлены следующие задачи:

1. Определить параметры острой токсичности, кумулятивные свойства, эмбриотоксическое и тератогенное действие зеараленона и Т-2 токсина при комбинированном их воздействии на животных.
2. Изучить клинико-гематологические, биохимические, патолого-анатомические показатели и естественную резистентность у животных при комбинированном отравлении их зеараленоном и Т-2 токсином.
3. Провести отбор и сравнительную оценку энтеросорбентов различных групп в отношении зеараленона и Т-2 токсина.
4. Изучить эффективность применения фитосорба и бентонита Тарн-Варского месторождения РТ при комбинированном воздействии зеараленона и Т-2 токсина на животных.
5. Провести производственные испытания отобранных средств для профилактики смешанных микотоксикозов.

1.4. Научная новизна. Впервые установлено взаимоусиливающее действие зеараленона и Т-2 токсина при комбинированном воздействии на животных и разработаны профилактические средства.

Определены острая токсичность, кумулятивные, эмбриотоксические и тератогенные свойства, влияние на гематологические, биохимические показатели и естественную резистентность животных при комбинированном воздействии зеараленона и Т-2 токсина.

Впервые в лабораторных и производственных условиях обоснована и подтверждена профилактическая эффективность применения фитосорба и бентонита Тарн-Варского месторождения РТ при комбинированном отравлении животных зеараленоном и Т-2 токсином.

1.5. Практическая ценность работы. На основании проведённых исследований дана комплексная токсикологическая оценка сочетанного воздействия зеараленона и Т-2 токсина для лабораторных и сельскохозяйственных животных, которую следует учитывать при диагностике смешанных микотоксикозов.

В качестве средств профилактики при сочетанном воздействии зеараленона и Т-2 токсина на организм животных рекомендуется применять фитосорб в количестве 0,5% и бентонит в количестве 1% от рациона.

Результаты исследований использованы при составлении «Рекомендации по борьбе со смешанными микотоксикозами животных в Республике Татарстан» утвержденный Министерством сельского хозяйства и продовольствия РТ 2007г.

1.6. Аprobация материалов диссертации. Основные материалы диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на научных сессиях ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по итогам НИР за 2006-2008 г.г.; межрегиональных, международных научно – практических конференциях и симпозиумах (Казань 2006; 2008; Москва, 2007; Троицк, 2007; Екатеринбург, 2008; Ульяновск, 2008; Санкт – Петербург, 2008).

1.7. Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 2 - в реферируемых ВАК изданиях.

1.8. Основные положения, выносимые на защиту:

- токсикологическая оценка зеараленона и Т-2 токсина при сочетанном их воздействии на животных;
- клинико-гематологические, биохимические показатели и естественную резистентность животных при сочетанном воздействии зеараленона и Т-2 токсина;
- профилактическая эффективность сорбентов фитосорба и бентонита при сочетанном отравлении животных зеараленоном и Т-2 токсином.

1.9. Объём и структура работы. Диссертация изложена на 136 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, методов и результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа

иллюстрирована 4 рисунками и содержит 33 таблицы. Список литературы включает 231 литературный источник, в том числе 117 зарубежных авторов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2006–2008 гг. в отделе токсикологии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань).

Для экспериментальных исследований использовали кристаллические зеараленон и Т-2 токсин, полученные в лаборатории микотоксинов ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» доцентом Сергейчевым А.И. В качестве продуцентов микотоксинов использовали гриб *Fusarium sporotrichiella*, штамм 2м*15, предоставленный проф. Котиком А.Н.

В экспериментах использованы 550 белых крыс, 112 кроликов, 24 овцы и 20 подсвинок. Кормление осуществлялось в соответствии зоотехническим требованиям.

Введение микотоксинов осуществляли перорально в виде 5%-ого водно-спиртового раствора.

Расчёт токсических доз проводили по методу Кербера (1931). Кумулятивные свойства определяли по методу Лима и др. (1961), с выявлением коэффициента кумуляции по формуле Кагана Ю.С., Станкевича В.В. (1964). Определение острой и хронической токсичности проводили общепринятыми методами.

В ходе экспериментов изучалось клиническое состояние животных, потребление корма и воды, изменение массы тела, температуры, частоты пульса и дыхания, регистрировали продолжительность жизни, патологоанатомическую картину. После проведения необходимых процедур, определяемых целью и задачами эксперимента, брали кровь для исследований.

У опытных и контрольных животных брали кровь путём декапитации у крыс, у овец из яремной вены, подсвинок из хвоста.

Количество эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина в периферической крови определяли по общепринятым методом, общий белок - рефрактометрическим методом (Кондрахин И.П., 2004). Биохимические показатели сыворотки крови определяли на анализаторе EXPRESS PLUS. Лизоцимную активность сыворотки крови определяли по Маркову Ю.М. (Плященко С.И., Сидоров В.Т., 1979), а фагоцитарную активность нейтрофилов по Кост С.А. и Стенко М.И. (1974).

Изучение эмбриотоксического действия зеараленона и Т-2 токсина проведено в соответствии «Методическим указаниям по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию» (Хабриев Р.У., 2005.)

Органолептические исследования мяса были проведены в соответствии с ГОСТ 7269-79. Физико-химические анализы мяса проводили на основании ГОСТ 23392-78.

В основу эксперимента по определению адсорбционной способности сорбентов *in vitro* была положена методика, описанная Крюковым В.С. и др. (1992) с изменениями, учитывающими специфику индикации микотоксинов.

В качестве профилактических средств применялись фитосорб сорбент производства ФГУ «ФЦТРБ», КГТУ (КХТИ) и ООО Маркорм и бентонит Тарн-Варского месторождения РТ.

При выполнении отдельных этапов работы принимали участие доцент Сергейчев А.И., с.н.с., Семёнов Э.И., за что автор выражает им искреннюю благодарность.

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьуденту на персональном компьютере с использованием программы Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Острая токсичность зеараленона и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном воздействии

Установлено, что среднесмертельная доза зеараленона для крыс при раздельном поступлении составила 9,0 г/кг, Т-2 токсина – 2,3 мг/кг, при сочетанном воздействии – 1,4 г/кг и 1,3 мг/кг соответственно.

Аналогичные исследования были проведены на кроликах. Среднесмертельная доза зеараленона для кроликов составила 4,5 г/кг, Т-2 токсина – 0,52 мг/кг, а при сочетанном воздействии 0,28 г/кг и 0,27 мг/кг соответственно.

Проведённые опыты свидетельствуют о том, что зеараленон и Т-2 токсин при сочетанном воздействии на животных вызывают смертельный исход при меньших дозах, чем при их раздельном введении.

3.2. Кумулятивные свойства зеараленона и Т-2 токсина при их сочетанном воздействии

В эксперименте использовали белых крыс, которым в течение 19 сут перорально вводили зеараленон и Т-2 токсин в дозах 1/10 ЛД₅₀, увеличивая её через каждые 4 сут в 1,5 раза.

Гибель крыс начиналась на 8 сут с момента введения токсинов, а на 11 сут погибло 50% животных.

При многократном введении зеараленона и Т-2 токсина дозы, вызывающие гибель 50% животных, составили 2,34 г/кг и 2,15 мг/кг соответственно, что значительно ниже, чем при раздельном поступлении каждого из токсинов.

Коэффициент кумуляции зеараленона и Т-2 токсина при сочетанном воздействии для крыс составил 1,65. Согласно принятой классификации (Медведь Л.И., 1964), зеараленон и Т-2 токсин при сочетанном воздействии обладают выраженной кумуляцией.

3.3. Эмбриотоксичность и тератогенность зеараленона и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном воздействии

Опыты проведены на 48 самках белых крыс, разделённых на 4 группы по 12 крыс в каждой. Первая группа животных служила биологическим контролем, вторая группа получала зеараленон, самки третьей – Т-2 токсин. Четвертая группа

получала одновременно оба токсина. Животным зеараленон и Т-2 токсин задавали с 1 по 17 сут беременности, дозами 0,14 и 0,13 мг/кг, соответственно. Во всех подопытных группах следили за общим состоянием животных и их активностью. Результаты эксперимента представлены в таблице.

Таблица. - Эмбриотоксические свойства зеараленона и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном воздействии на крыс (n=6)

Показатель	Группа животных			
	1	2	3	4
количество желтых тел	12,8±0,52	12,2±0,3	12,3±0,12	12,3±1,97
количество мест имплантаций	12,0±0,41	11,2±0,22	11,4±0,2	10,8±0,26*
количество живых плодов	11,5±0,6	10,3±0,21	10,01±0,19*	8,7±0,39**
количество мертвых плодов	0,8±0,2	1,0±0,31	0,9±0,41	1,3±0,35
доимплантационная гибель, %	6,3±0,8	8,2±0,53*	7,3±0,36	12,2±0,48***
постимплантационная гибель, %	6,7±0,65	8,0±0,54	12,2±1,2**	19,4±1,6***
общая эмбриональная смертность, %	12,5±1,4	15,6±0,75*	18,6±2,30*	29,3±2,1**
выживаемость, %	87,5±1,5	84,6±1,4	81,4±1,2*	80,7±1,0**
краниокаудальный размер плода, см	3,2±0,4	2,89±0,12	2,9±0,2	2,1±0,08**
масса плода, г	2,99±0,06	2,82±0,06	2,83±0,15	2,5±0,1**

* - $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$

Данные таблицы свидетельствуют о том, что предимплантационная гибель плодов в группах, получавших зеараленон и Т-2 токсин раздельно, по сравнению с контрольной, увеличилась на 30 ($p < 0,05$) и 16%, соответственно, в группе при их сочетанном воздействии она увеличилась на 93% ($p < 0,001$).

Постимплантационная гибель плодов во второй группе по сравнению с контролем, увеличилась на 19,0%, в третьей - на 82,0%, в четвертой - в 1,8 раза ($p < 0,001$).

Наименьшее увеличение эмбриональной смертности, по сравнению с контролем, наблюдалось у плодов, получавших раздельно зеараленон – 25,0%

($p < 0,05$), и Т-2 токсина - на 49,0% ($p < 0,05$). Наибольшее повышение эмбриональной смертности плодов происходило в группе, получавшей сочетанно зеараленон и Т-2 токсин - в 1,3 раза ($p < 0,01$).

Краниокаудальный размер плода в группах, получавших зеараленон и Т-2 токсин раздельно, по сравнению с контролем, сократился на 10,7 и 10,4%, соответственно, при их сочетанном введении на 35,0% ($p < 0,01$).

Наблюдалось также и уменьшение массы плода в опытных группах по сравнению с контрольной. У крыс получавших раздельно Т-2 токсин масса плода уменьшилась на 6,4 %, а зеараленон - на 7,1%. Наибольшее уменьшение массы плода происходило при сочетанном поступлении обоих токсикантов - на 16,4% ($p < 0,01$).

Топография костных и хрящевых закладок в скелете не нарушалась. У плодов в группах, получавших токсины отмечали задержку окостенения костей осевого скелета. Также отмечалось закономерное отставание в формировании хвостовых позвонков, пястных и плюсневых костей. У большинства плодов, получавших в группах сочетанно зеараленон и Т-2 токсин, неокрашенными оставались последние крестцовые позвонки, кости плюсны и пальцы и последние кости грудины. В группах, получавших раздельно зеараленон и Т-2 токсин, эти процессы были менее выражены.

При изучении постнатального развития потомства самок заметных изменений в продолжительности беременности у крыс опытных групп по сравнению с контрольной, не наблюдалось.

По проценту мертворождений наиболее высокий рост, относительно контроля, наблюдался в группе, получавшей сочетанно зеараленон и Т-2 токсин в 1,1 раза, в группах, получавших раздельно зеараленон и Т-2 токсин - на 85,0 и 74,0%. В четвертой группе наблюдался высокий процент постнатальной смертности крысят к 28 сут жизни в 1,4 раза превышающий показатель контрольной группы, а во второй и третьей группах он увеличился на 70,0 и 97,0% соответственно. По таким показателям, как время отлипания ушей, срок

опущения, прозрения и прорезывания резцов, значительных различий в опытных группах, относительно контрольной, не отмечалось.

Таким образом, результаты проведённых исследований свидетельствуют о том, что при сочетанном введении зеараленона и Т-2 токсина наблюдали более выраженное эмбриотоксическое и тератогенное действие на организм крыс, чем при их раздельном применении.

3.4. Токсичность зеараленона и Т-2 токсина при их многократном раздельном и сочетанном воздействиях на крыс

Исследования проводились на белых крысах, для этого они были разделены в 4 группы по 18 животных в каждой. Первая группа служила биологическим контролем и получала растворитель в аналогичном объёме, вторая - зеараленон в дозе 0,14 мг/кг, третья группа - Т-2 токсин - 0,13мг/кг, животные четвёртой группы – одновременно оба микотоксина.

Клинические признаки отравления в более ранние сроки начали проявляться в группе крыс, получавших совместно оба микотоксина, и характеризовались угнетением, снижением аппетита, взъерошенностью шёрстного покрова, шаткостью походки, диареей. В группах, получавших токсины раздельно, клиническая картина интоксикации проявлялась в более поздние сроки и была менее выражена. В группах крыс, получавших Т-2 токсин, как раздельно, так и совместно с зеараленоном, к окончанию эксперимента отмечались эрозии и некрозы кожи губ и слизистых оболочек ротовой полости.

У крыс, затравленных только зеараленоном, снижение количества эритроцитов по сравнению с контролем к 30 сут составило 13,6%, у получавших Т-2 токсин - 31,0%, при сочетанном введении этих микотоксинов количество эритроцитов уменьшилось в эти же сроки на 41,0%.

Количество лейкоцитов во второй группе крыс снизилось к 30 сут на 13,0%, в третьей – на 43%, в четвёртой группе снижение составило 52,0%.

Содержание гемоглобина к 30 сут у животных во второй группе снизилось по сравнению с контролем на 25%, в третьей - на 44,0%, в четвёртой группе снижение гемоглобина в эти же сроки составило 49,0%.

СОЭ увеличилась к 30 сут во второй группе на 16,7%, в третьей - на 66,7%, в четвёртой - на 130,0%.

Отмечалось снижение содержания общего белка в сыворотке крови крыс, получавших зеараленон к 30 сут исследования на 13,8%, - Т-2 токсин – на 23,3%, а при сочетанном введении микотоксинов снизилось на 29,9%.

Таким образом, по большинству гематологических, биохимических и показателей естественной резистентности крови животных указывают на то, что при многократном сочетанном воздействии зеараленона и Т-2 токсина происходили более существенные изменения, чем при раздельном.

3.5. Раздельное и сочетанное воздействия зеараленона и Т-2 токсина на овец

Исследования по изучению токсических свойств зеараленона и Т-2 токсина при раздельном и сочетанном их воздействии проводились на овцах. Для этого были сформированы 4 группы животных по 3 овцы в каждой. Первая группа служила биологическим контролем, вторая группа получала зеараленон в дозе 0,14 мг/кг, третья – Т-2 токсин - 0,13 мг/кг, а четвертая группа сочетанно зеараленон и Т-2 токсин в дозах 0,14 и 0,13 мг/кг, соответственно.

Клинические признаки отравления раньше всех начали проявляться у овец, получавших сочетанно зеараленон и Т-2 токсин. К 12 сут эксперимента у животных этих групп наблюдалось угнетение, снижение аппетита, к 16 сут отмечались диарея, эрозии и некрозы кожи губ и слизистых оболочек ротовой полости. У овец, получавших токсины раздельно, клиническая картина интоксикации проявлялась в более поздние сроки и была менее выражена.

У овец, получавших только зеараленон, количество эритроцитов в течение всего эксперимента снижалось незначительно; а - Т-2 токсин к 30 сут снизилось на 15,3%. При сочетанном воздействии зеараленона и Т-2 токсина количество эритроцитов к 30 сут уменьшилось на 22,3%.

Количество лейкоцитов во второй группе овец к 30 сут уменьшилось на 8,3%, в третьей – на 35,3%, в четвёртой группе снижение в этот срок составило 39,7%.

Содержание гемоглобина во второй группе к 30 сут снизилось по сравнению с контролем на 7,0%, в третьей – на 20,2%, в четвертой – на 25,3%.

СОЭ во второй группе к 30 сут увеличилась на 20,0%, в третьей группе – на 40,5%, в четвёртой - в 1,2 раза.

Содержание общего белка в сыворотке крови всех подопытных овец в течение всего эксперимента постоянно снижалось. Наиболее значительное снижение отмечалось к концу эксперимента в группе овец, получавших совместно зеараленон и Т-2 токсин – на 23,4%, при раздельном поступлении только зеараленона – на 12,6%, Т-2 токсина - на 22,6%.

Активность щелочной фосфатазы в крови овец к концу эксперимента во второй группе увеличилась на 31,2%, в третьей - на 54,1%, в четвертой группе – на 75,2%.

Активность АЛТ в группе овец, получавших зеараленон к 30 сут увеличилась на 19,3%, - Т-2 токсин – на 40,4%, а совместно оба микотоксина – на 59,2%.

Активность АСТ увеличилась во всех группах. Так, во второй группе увеличение к 30 сут составило 15,3%, в третьей и четвертой группах 28,1 и 44,3% соответственно.

Содержание азота мочевины уменьшалось на протяжении всего эксперимента, по сравнению с показателями контроля: во второй группе к 30 сут на 21,2%, в третьей и четвертой - на 37,9 и 47,4% соответственно.

Концентрация триглицеридов во второй группе к 30 сут увеличилась на 15,9%, в третьей и четвертой группах животных - на 34,5 и 51,9%, соответственно.

К концу исследований наблюдалось понижение фагоцитарной активности у овец во второй группе на 12%, в третьей – на 19%, в четвертой – на 24%.

Фагоцитарное число уменьшилось в данные сроки во второй и третьей группах на 19 и 29% соответственно, а в четвертой группе – на 34%.

Фагоцитарный индекс снизился во второй группе на 10%, в третьей группе – на 13%, в четвертой – на 15%.

Фагоцитарная емкость уменьшилась по сравнению с контролем во второй группе на 25%, в третьей и в четвертой группах на 54 и на 61%, соответственно.

Активность лизоцима понижалась во второй группе на 15, в третьей – на 41, а в четвертой – на 50%.

В конце эксперимента провели убой животных из каждой группы для патологоанатомических исследований.

При проведении патологоанатомического исследования овец, получавших раздельно зеараленон, видимых отклонений от нормы не наблюдалось. Сердце округлой формы. Легкие бледно-розового цвета, плотной консистенции, края заостренные. Селезенка не увеличена, вишнево-красного цвета, края острые. Печень темно-вишневого цвета, упругая, плотной консистенции в объеме не увеличена.

У овец, получавших раздельно Т-2 токсин, наблюдалось истощение. В подкожной клетчатке жировые отложения отсутствовали. Сердце округлой формы, в полостях несвернувшаяся кровь темно-вишневого цвета. Миокард сероватого цвета, дряблый. Легкие, розовые с участками темно-вишневого цвета у основания, плотной консистенции. Селезенка не увеличена, вишнево-красного цвета, края острые. Печень темно-красного цвета, дряблая (разрывается в руках). Головной мозг отечный, плотной консистенции, сосуды кровенаполнены.

При вскрытии овец, получавших сочетанно зеараленон и Т-2 токсин, наблюдали следующие изменения: сердце округлой формы, в полостях несвернувшаяся кровь темно-вишневого цвета. Миокард светло-красного цвета, дряблый. Селезенка не увеличена, вишнево-красного цвета, края острые, дряблая. Печень темно-красного цвета, упругая, в объеме не увеличена. Головной мозг отечный, плотной консистенции, сосуды кровенаполнены.

В конце эксперимента провели убой животных из каждой группы для ветеринарно-санитарной экспертизы мяса. Оценка качества мяса овец проводилась на 2 и 10 сут хранения после убоя. Мясо хранили в холодильнике

при температуре от 0 до +4 °С, с оптимальной влажностью 85-90%. Проводили органолептические, бактериоскопические и физико-химические исследования.

Установлено, что на 10 сут хранения в мясе подопытных овец наблюдались первые признаки порчи, особенно в группе животных, получавших совместно оба микотоксина. Так, рН мяса овец, получавших зеараленон, был выше контроля на 0,39 ед, Т-2 токсин – на 0,51, оба микотоксина – на 0,58. При постановке реакции с сернистой медью бульон из мяса овец, получавших отдельно зеараленон и Т-2 токсин, был прозрачным; при совместном введении токсикантов в бульоне наблюдалось помутнение. Реакция на пероксидазу в контрольной группе была положительная, в пробах опытных групп – отрицательной. При проведении формольной реакции, в мясе овец, получавших токсины, наблюдались хлопья. Вытяжка при определении аммиака и солей аммония с реактивом Несслера, в контроле и группах овец, получавших микотоксины отдельно, окрашивалась в зеленовато-жёлтый цвет, при совместном получении токсикантов – в интенсивно-жёлтый. Количество аминокислотного азота в мясе овец, получавших зеараленон, было выше контроля на 122,1%, Т-2 токсин – на 169,3%, оба микотоксина – на 316,8%. По количеству ЛЖК мясо овец, получавших зеараленон, было выше контроля на 58,6%, Т-2 токсин – на 77,0, оба микотоксина – на 93,4%.

Исходя из полученных результатов, можно сделать заключение, что при сочетанном введении микотоксинов отмечалось снижение качества мяса по физико-химическим и бактериоскопическим показателям.

3.6. Адсорбционные свойства энтеросорбентов в отношении микотоксинов зеараленона и Т-2 токсина

Были проведены исследования по оценке сорбционной способности к зеараленону и Т-2 токсину следующих сорбентов фитосорб, бентониты Биклянского, Тарн-Варнского месторождений, микосорб, зоокарб, цеолит.

По результатам исследований сорбентов при температуре среды от 21-39°С и рН от 2-7, наилучшими адсорбционными свойствами к зеараленону обладал фитосорб (83,2%), а к Т-2 токсину бентонит Тарн-Варнского месторождения (82,4%).

3.7. Влияние рациона с сорбентами на течение зearаленон и Т-2 токсикоза у крыс

Исследования проводились на белых крысах живой массой 120-130г. Для этого были сформированы 5 групп животных по 18 крыс в каждой.

Первая группа служила контролем, вторая группа получала с рационом зearаленон и Т-2 токсин сочетанно дозами 0,14 и 0,13 мг/кг соответственно. Третья группа получала с рационом сочетано оба микотоксина и фитосорб в количестве 0,5% от массы рациона. Четвёртая группа животных получала с рационом также оба токсиканта и бентонит Тарн-Варского месторождения Республики Татарстан в количестве 1% от массы рациона. Животные пятой группы получали с рационом сочетанно оба микотоксина и сорбенты, фитосорб в количестве 0,5% и бентонит Тарн-Варского месторождения в количестве 1% от массы рациона.

Клинические признаки отравления начали проявляться во второй группе крыс в более ранние сроки и характеризовались угнетением, снижением аппетита, взъерошенностью шёрстного покрова, шаткостью походки. В пятой группе клиническая картина интоксикации проявлялась в более поздние сроки и была менее выражена, чем в третьей и четвертой группах, где сорбенты применялись раздельно.

Снижение количества эритроцитов во второй группе по сравнению с контролем к 30 сут составило 42%, в третьей - 22,6%, четвертой - 25,4%, в пятой - 22,0%.

Число лейкоцитов во второй группе крыс уменьшилось к 30 сут на 43%, третьей на - 24,7%, в четвертой на - 27,6%, в пятой - на 24,4%.

Содержание гемоглобина к 30 сут снизилось, по сравнению с контролем, во второй группе на 46%, в третьей - на 16,8%, в четвертой - на 26,0%, в пятой группе снижение гемоглобина в эти же сроки составило 16,7%.

СОЭ увеличилась во второй группе к 30 сут в 1,2 раза, в третьей - на 36,4%, в четвертой - на 45,4%, в пятой группе - на 27,2%.

Таким образом, совместное использование фитосорба и бентонита оказывало более выраженное защитное действие на гематологические,

биохимические и показатели естественной резистентности крови, чем их раздельное применение при сочетанном воздействии зеараленона и Т-2 токсина.

3.8. Влияние рациона с добавлением сорбентов на течение зеараленона - и Т-2 токсикоза у овец

Исследования по изучению токсических свойств зеараленона и Т-2 токсина при сочетанном их воздействии в дозах 0,14 и 0,13 мг/кг соответственно, на фоне применения сорбентов проводились на овцах. Для этого были сформированы 3 группы животных по 3 овцы в каждой.

Первая группа служила биологическим контролем и получала рацион без добавок, вторая группа получала с рационом сочетанно оба микотоксина. Третья группа животных получала с рационом сочетанно оба микотоксина и сорбенты, фитосорб в количестве 0,5% и бентонит Тарн-Варского месторождения в количестве 1% от массы рациона.

Клиническое состояние животных второй группы изменилось на 12 сут эксперимента и характеризовалось снижением аппетита, угнетением, саливацией, взъерошенностью шёрстного покрова, диареей, тремором отдельных мышц конечностей, некротическим поражением ротовой полости. У овец третьей группы клинические признаки отравления проявлялись к 17 сут опыта и характеризовались лишь снижением аппетита и угнетением.

Количество эритроцитов в группе овец, получавших микотоксины без сорбентов, уменьшилась к 30 сут на 22,5%. В группе овец, получавших вместе с микотоксинами в качестве профилактического средства сорбенты, отклонения данного показателя от контроля были менее выражены.

Отмечалось снижение количества лейкоцитов к 30 сут во второй группе на 38,7%, в третьей - на 23,1%.

Концентрация гемоглобина в крови овец к 30 сут исследования во второй группе снизилась на 26%, в третьей группе – на 17%.

В течение эксперимента происходило повышение СОЭ всех подопытных овец. Во второй группе к 30 сут -на 1,1 раза, в третьей - 24%.

В ходе эксперимента количество общего белка в крови подопытных овец постоянно снижалось. Во второй группе эти изменения были более

существенными и снижение этого показателя к 30 сут составило 28%. В третьей группе белок к 30 сут снизился лишь на 14,3%.

Активность щелочной фосфатазы в крови овец в течение всего эксперимента была повышенной, по сравнению с контрольной группой, во второй группе к 30 сут – на 80,2, в третьей группе - на 53,2%.

Уровень АЛТ во второй группе повысился, по сравнению с контрольной группой, к 30 сут на 39,4, в третьей - на 30,8%.

Активность АСТ во второй группе увеличилась к 30 сут на 39,4%, в третьей группе увеличение составило 22,4%.

Показатели общего билирубина к 30 сут увеличились во второй группе на 58,0%, в третьей – на 25,8%.

Содержание азота мочевины во второй группе уменьшилось к 30 сут на 52,0%, в третьей - на 30,2%.

Концентрация триглицеридов увеличилась во второй группе к 30 сут на 49,6%, в третьей - на 28,1%.

На 30 сут исследований наблюдалось понижение фагоцитарной активности во второй группе на 25,0%, в третьей - на 14,6%.

Фагоцитарное число уменьшалось в данные сроки во второй и третьей группах на 33,2 и 21,6% соответственно.

Фагоцитарный индекс снизился во второй группе на 13,0, в третьей - на 9,1%.

Фагоцитарная емкость уменьшалась, по сравнению с контролем, во второй группе на 58,4%, в третьей - на 39,6%.

Активность лизоцима понизилась во второй группе на 46,2%, в третьей - на 26,3%.

На 10 сут хранения после убоя были проведены органолептические, бактериоскопические и физико-химические исследования. Количество аминокислотного азота в мясе овец, получавших оба микотоксина без добавления сорбентов, было выше контроля на 250,8%, в группе, где с токсинами давался

сорбент на 170%. Количество ЛЖК, во второй группе было выше контроля на 88,0%, в третьей – на 43,0%.

По результатам исследований можно сделать заключение, что мясо животных, получавшие сочетано микотоксины без применения сорбентов, имеет показатели с более выраженными отклонениями от нормы, чем мясо овец, получавших микотоксины с сорбентами.

3.9. Профилактическая эффективность фитосорба и бентонита при сочетанных микотоксикозах в производственных условиях

Производственные опыты были проведены в СХКП им Вахитова Кукморского района Республики Татарстан. Предпосылкой к исследованиям профилактической эффективности фитосорба и бентонита в производственных условиях на базе данного хозяйства послужили результаты микологического и микотоксикологического исследования заготовленных кормов. Корма были поражены микотоксинами зеараленон, Т-2 токсин, ДОН, которые продуцируются токсигенными микроскопическими грибами р. *Fusarium*.

Для этого сформировали две группы животных: первая группа (10 голов) служила контрольной и получала, основной рацион содержащий микотоксины, вторая группа (10 голов) получала основной рацион, и дополнительно фитосорб 0,5% и бентонит в количестве 1% от рациона.

В группе подсвинок, получавших микотоксины без применения сорбентов, к 30 сут эксперимента количество эритроцитов было ниже исходных показателей на 20,0%, лейкоцитов - на 12%, гемоглобина - на 9,0%, количество общего белка понизилось на 10,0%. В группе животных, получавших вместе с основным рационом сорбенты, происходила нормализация гематологических показателей, по сравнению с исходными данными.

Установлено, что применение сорбентов оказывало положительное влияние на гематологические и весовые показатели поросят, по сравнению с поросятами, получавшими основной рацион без добавления сорбентов.

ВЫВОДЫ

1. Среднесмертельная доза зеараленона и Т-2 токсина для белых крыс при раздельном воздействии составляет 9,0 г/кг и 2,3 мг/кг, при сочетанном – 1,4 г/кг и 1,3 мг/кг; для кроликов при раздельном 4,5 г/кг и 0,52 мг/кг, при сочетанном – 0,28 г/кг и 0,27 мг/кг соответственно, что свидетельствует о взаимоусиливающем действии токсикантов; коэффициент кумуляции равен 1,65, что характерно для веществ с выраженной кумуляцией.

2. Сочетанное воздействие зеараленона и Т-2 токсина оказывает эмбриотоксическое и тератогенное действие на организм белых крыс: предимплантационная гибель плодов увеличилась, относительно контроля, на 93,0%, постимплантационная гибель – в 1,8 раза, общая эмбриональная смертность – на 29,3%.

3. Многократное сочетанное воздействие зеараленона и Т-2 токсина на крыс, овец характеризуется более выраженными изменениями клинических, гематологических, биохимических показателей и естественной резистентности и ярко выраженной патологоанатомической картиной, чем при раздельном воздействии микотоксинов. Отмечается уменьшение количества эритроцитов на 22,3%, лейкоцитов на 39,7%, гемоглобина на 25,3%, общего белка на 23,4%, фагоцитарной активности на 24%, фагоцитарного числа на 34%, фагоцитарной емкости на 61% и активности лизоцима на 50%.

4. Сочетанное воздействие зеараленона и Т-2 токсина снижает качество мяса по физико-химическим и бактериоскопическим показателям при его хранении.

5. Из исследованных 7-ми энтеросорбентов наиболее выраженными сорбционными свойствами в отношении зеараленона и Т-2 токсина обладают фитосорб - сорбционная способность 83,2% и бентонит Тарн-Варского месторождения - сорбционная способность 82,4%.

6. Установлена эффективность применения фитосорба 0,5% и бентонита в количестве 1% от массы рациона для профилактики при сочетанном воздействии зеараленона и Т-2 токсина. При совместном применении сорбентов наблюдали

нормализацию гематологических, биохимических показателей естественной резистентности животных и улучшение качества мяса по физико-химическим и бактериоскопическим показателям, по сравнению с отдельным применением препаратов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Данные по токсикологической оценке сочетанного воздействия зеараленона и Т-2 токсина следует учитывать при санитарной оценке кормов и диагностике отравлений животных.

2. В качестве средств профилактики при сочетанном воздействии зеараленона и Т-2 токсина на организм животных рекомендуется добавлять в количестве; фитосорб 0,5% и бентонит Тарн-Варского месторождения 1% от рациона.

3. Результаты исследований использованы при составлении «Рекомендации по борьбе со смешанными микотоксикозами животных в Республике Татарстан» утвержденные Министерством сельского хозяйства и продовольствия Республики Татарстан 2007г.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Валиуллин, Л.Р. К поиску средств профилактики сочетанных Т-2 и зеараленона токсикозов животных / Л.Р. Валиуллин, В.Ю. Титова, Ф.Г. Ахметов // Международная научная конференция «Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка» 25-27 октября 2006 г.- Казань, 2006.- с. 58-60.

2. Титова, В.Ю. Зеараленона токсикозы животных / В.Ю.Титова, Л.Р. Валиуллин // Международная научная конференция «Токсикозы животных и актуальные проблемы болезней молодняка» 25-27 октября 2006 г. - Казань, 2006.- с. 200- 202.

3. Валиуллин, Л.Р. Токсикологическая оценка сочетанного воздействия Т-2 токсина и зеараленона. / Л.Р. Валиуллин, А.И. Сергейчев, М.Я. Тремасов и др. // Фармакологические и экотоксикологические аспекты ветеринарной медицины: Материалы научно-практической конференции фармакологов РФ. Сб. научных трудов.- Троицк: УГАВМ, 2007.- 47-50 с.

4. Иванов, А.В. К профилактике микотоксикозов / А.В. Иванов, А.И. Сергейчев, Л.Р. Валиуллин // Вестник российской военно-медицинской академии. - 2008.- № 3.- Санкт- Петербург, 2008 г.- С. 193-194.

5. Валиуллин, Л.Р. Определение токсичности микотоксинов гриба р. *Fusarium*: зеараленона и Т-2 токсина при раздельном и сочетанном их воздействии

на кроликов / Л.Р. Валиуллин // Актуальные вопросы аграрной науки и образования, посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА: Мт-лы Международной научно- практической конференции.- Т.3. - Ульяновск, 2008.- С. 23-24.

6. Валиуллин, Л.Р. Влияние длительного сочетанного поступления зеараленона и Т-2 токсина на динамику массы тела и гематологические показатели белых крыс / Л.Р. Валиуллин // Материалы научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные проблемы ветеринарии» 29 июня 2007 г. - Казань, 2007.- с.30-32.

7. Валиуллин, Л.Р. Изучение адсорбционных свойств энтеросорбентов *in vitro* в отношении микотоксина зеараленона / Л.Р. Валиуллин, Э.И. Семенов // Т-2.-М. Национальная академия микологии. 2008.

8. Валиуллин, Л.Р. Адсорбционные свойства сорбентов в отношении микотоксинов зеараленон и Т-2 токсина в условиях *in vitro* / Л.Р. Валиуллин, Э. И. Семенов, А.И. Сергейчев и др. // Сборник научных трудов ведущих ученых России, СНГ и др. стран: Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц. – Екатеринбург. – 2008. – Вып.2. – с. 545.

9. Валиуллин, Л.Р. Влияние зеараленона и Т-2 токсина на показатели естественной резистентности крыс при раздельном и сочетанном их воздействии / Л.Р. Валиуллин // - Всероссийская научно-практическая конференция «Научный потенциал – аграрному производству» посвященная 450-летию вхождения Удмуртии в состав России. 25-29 февраля 2008г. Ижевск, - 2008. – Т.3. – с. 188.

10. Валиуллин, Л.Р. Эмбриотоксическое действие зеараленона и Т-2 токсина при их раздельном и сочетанном применении / Л.Р. Валиуллин, Э.Ю. Лодвигов // Ветеринарный врач – 2008. - №5. – с.10-12.

Подписано в печать 30.12.2008 Формат 60х84 1/16 Объем 1,5 п.л.

Заказ №3 Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань).

Адрес: 420075, г. Казань, Научный городок-2.