

УДК 612.014.46:636.52/.58

ВПЛИВ СОРБЕНТІВ НА КОЦЕНТРАЦІЮ Т-2 І НТ-2 ТОКСИНІВ У ВМІСТИМОМУ ТРАВНОГО ТРАКТУ КУРЕЙ *IN VITRO*

І. Я. Коцюмбас, О. І. Федякова
olesja_v@ukr.net

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок, 79019, м. Львів, вул. Донецька, 11

Прояви захворювань, викликаних Т-2 токсином та його метаболітами, (розвиток некрозів у стравоході, зниження апетиту, діарея, ураження печінки, зменшення поголів'я та приростів живої маси) часто спостерігаються у галузі птаківництва, яка використовує найбільшу частку зерна і зернопродуктів. Тому метою нашої роботи був пошук оптимальних шляхів попередження мікотоксикозів, а саме вивчення впливу окремих сорбентів на вміст трихотеценових токсинів.

У статті приведено результати досліджень вмісту Т-2 та НТ-2 токсинів у різних компонентах кормів курей (пшениця, тритикале, горох, ячмінь, кукурудза) проведених методом імуноферментного аналізу. Встановлено природну контамінацію досліджуваних зразків кукурудзи і ячменю в концентраціях 0,15 і 1,8 нг/г зерна відповідно. Для вивчення ефективності окремих препаратів (аеросил, «Кормосан», цеоліт,

«Мікотокс») щодо нейтралізації трихотеценових токсинів було сформовано 4 групи зразків, які інкубували при температурі 38 °С, а також вносили шлунковий сік та жовч, відповідно до фізіологічних умов окремих відділів травного тракту курей. Проаналізовано здатність цих препаратів знешкоджувати досліджувані токсини *in vitro* у вмістимому вола, шлунку і кишківника. Встановлено високі показники сорбції аеросилом і «Кормосаном» досліджуваних мікотоксинів у кормах. Разом із тим, порівнюючи отримані в ході експериментів результати у різних відділах травного тракту курей, найефективнішим сорбентом виявився аеросил.

Ключові слова: МІКОТОКСИНИ, МІКОТОКСИКОЗИ ПТИЦІ, ТРИХОТЕЦЕНИ, Т-2 ТОКСИН, НТ-2 ТОКСИН

IMPACT OF SORBENTS ON A CONCENTRATION OF T-2 AND HT-2 TOXINS WITHIN A DIGESTIVE SYSTEM OF THE CHICKENS

I. Y. Kotsyumbas, O. I. Fediakova
olesja_v@ukr.net

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products
and Feed Additives, 79019, Lviv, Donetska St., 11

Manifestations of disease caused by T-2 toxin and its metabolites (necrosis in the oesophagus, decreased appetite, liver damage, diarrhoea, reduce livestock performance, decrease in body weight) is often observed in the poultry industry that employs the largest share of grain and grain products. Therefore, the aim of our work was to find optimal ways to prevent mycotoxinoses, mainly the study of the influence of some individual sorbents on trichothecenes content.

In the article there are results of content of T-2 and HT-2 toxins in various components of poultry's food (wheat, triticale, peas, barley, corn) performed by ELISA. Established natural

contamination studied samples of corn and barley at concentrations of 0.15 and 1.8 ng/g grain, respectively. Four groups of samples were formed to study the effectiveness of certain drugs (aerosil, «Kormosan» ceolite, «Mykotox») that neutralize trichothecenes toxins. Samples were incubated at the temperature of 38 °C. Gastric juice and bile was added accordingly to physiological norms of individual sections of chicken's digestive system. Analyzed the ability of these drugs to neutralize toxins studied *in vitro* within the crop, stomach and intestines. Found high rates of sorption by aerosil and «Kormosan» of researched mycotoxins in feeds. However, comparing the obtained experimental data in different parts of

the digestive tract of chickens aerosil was the most effective sorbent.

Keywords: MYCOTOXINS, BIRDS
MYCOTOXICOSIS, TRYCHOTHECENES,
T-2 TOXIN, HT-2 TOXIN

ВЛИЯНИЕ СОРБЕНТОВ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ Т-2 И НТ-2 ТОКСИНОВ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОМ ТРАКТЕ КУР *IN VITRO*

И. Я. Коцюмбас, А. И. Федякова
olesja_v@ukr.net

Государственный научно-исследовательский контрольный институт
ветеринарных препаратов и кормовых добавок, 79019, г. Львов, ул. Донецкая, 11

Наиболее частые проявления заболеваний вызванных Т-2 токсином и его метаболитами (развитие некрозов в пищеводе, потеря аппетита, диарея, поражения печени, уменьшение поголовья и приростов живой массы) наблюдаются в области птицеводства, которая использует большую долю зерна и зернопродуктов. Поэтому целью нашей работы был поиск оптимальных путей предотвращения микотоксикозов, а именно изучение влияния некоторых сорбентов на концентрацию трихотеценовых микотоксинов.

В статье приведены результаты исследований содержания Т-2 и НТ-2 токсинов в различных компонентах корма кур (пшеница, тритикале, ячмень, кукуруза, горох) методом иммуноферментного анализа. Установлено естественную контаминацию кукурузы и ячменя в количестве 0,15 и 1,8 нг/г зерна соответственно. Для изучения эффективности отдельных препаратов (аэросил, «Кормосан», цеолит, «Микотокс») было сформировано 4 группы образцов, которые инкубировали, а также добавляли желудочный сок и желчь, в соответствии с физиологическими нормами неуторных отделов пищеварительного тракта кур. Проведен анализ способности этих препаратов к обезвреживанию исследуемых токсинов в зобе, желудке и кишечнике *in vitro*. Установлено высокие показатели сорбции аэросилом и «Кормосаном» исследуемых микотоксинов в кормах. Сравнение полученных в ходе экспериментов результатов в различных отделах пищеварительного тракта кур показало что, наиболее эффективным сорбентом оказался аэросил.

Ключевые слова:
МИКОТОКСИНЫ, МИКОТОКСИКОЗЫ

ПТИЦЫ, ТРИХОТЕЦЕНЫ, Т-2 ТОКСИН,
НТ-2 ТОКСИН

Невідомим компонентом ґрунтів України є гриби-мікроміцети, в тому числі токсигені [1]. Недотримання умов вирощування, збирання, транспортування і зберігання сільськогосподарської сировини може спричинити їх ураження мікроскопічними грибами [2] та забруднення вторинними продуктами їхнього метаболізму — мікотоксинами. Однією із найнебезпечніших груп є трихотеценові мікотоксини (ТТМТ), які продукуються грибами роду *Fusarium* [3]. До найбільш розповсюджених представників трихотеценів відносять Т-2 та НТ-2 токсини [4], які становлять значну небезпеку для здоров'я тварин, птиці та людини. Отруєння ТТМТ характеризується ураженням центральної нервової системи, шкірних покривів, шлунково-кишкового тракту, порушенням функціонування кровоносної, кровотворної та імунної систем, а також генотоксичними, тератогенними ефектами [5–7].

До негативного впливу Т-2 та НТ-2 токсинів чутливі всі тварини, проте найчастіші прояви захворювань, викликаних цими сполуками, спостерігаються у галузі птахівництва [2], яка використовує найбільшу частку зерна і зернопродуктів. Надходження Т-2 токсину в організм курей у невисоких дозах (до 1,0 мг/кг корму) спричиняє ціаноз гребінців, розвиток некрозів у стравоході, діарею, ураження печінки [8], а також зменшення поголів'я, показників приросту живої

маси, несучості, товщини шкаралупи яйця, погіршує виводимість та ін. [9, 10]. Високі дози (більше 3,5 мг/кг) Т-2 токсину спричиняють загибель [11]. Крім цього, із продукцією тваринництва (м'ясо, яйця, субпродукти та ін.) ТТМТ здатні потрапляти в організм людини і викликати цілу низку негативних ефектів [12].

Тому пошук шляхів попередження мікотоксикозів, зокрема деконтамінації кормів, є актуальною проблемою сучасного птахівництва [1, 2, 13].

Наявні на сьогодні методи знезараження кормів (амоніфікація, вимочування, озонування, обробка ультразвуком) є малоефективними, дорогими, трудомісткими, знижують харчові цінності та термін придатності кормів.

Одним із найефективніших на сьогодні способів детоксикації мікотоксинів є використання сорбентів. Вони знижують концентрацію токсичних речовин та їх метаболітів в організмі за рахунок абсорбції, що унеможливує їх потрапляння в кров'яне русло. Разом з тим, з літературних джерел відомо, що велика кількість сорбентів характеризуються низькою ефективністю знешкодження вомітоксину, зеараленону, Т-2- та охратоксину.

Тому метою нашої роботи було проаналізувати вплив окремих сорбентів (цеоліт, аеросил), та комерційних препаратів «Мікотокс» (Сева Санте Анімаль, Франція) і «Кормосан» (Бровафарма, Україна) на концентрацію Т-

2 токсину у вмістимому травного тракту курей *in vitro*.

Матеріали і методи

Для досягнення поставленої мети роботу проводили у два етапи: дослідження витягу Т-2 та НТ-2 токсинів, а також їх суміші з різних компонентів кормів та виявлення максимально ефективного сорбенту для їх нейтралізації.

На першому етапі роботи для встановлення витягу токсинів досліджено основні складові комбікорму для курей: пшеницю, кукурудзу, ячмінь, тритикале, горох. З цією метою було сформовано 4 групи зразків: Д1 — вільні від токсинів, Д-2 — фортифіковані Т-2 (10 нг/г), Д3 — НТ-2 (10 нг/г) токсинами, Д4 — їх суміш дозою 10+10 нг/г відповідно.

Екстракцію Т-2 та НТ-2 токсину проводили 80 % метанолом, зразки інтенсивно струшували впродовж 10 хв, центрифугували 5 хв при 3000 г. Для отримання кінцевої концентрації метанолу 35 % (відповідно до вимог методики) зразки додатково розводили в 2 рази. Концентрацію Т-2 токсину визначали методом імуноферментного аналізу, використовуючи тест-систему «RIDASCREEN Т-2/НТ-2 Toxin» (R-biopharm, Німеччина).

На другому етапі роботи для визначення ефективності досліджуваних сорбентів використовували пшеницю, контаміновану Т-2 токсином у концентрації 5 нг/г. Зразки формували у групи за схемою, наведеною у таблиці 1.

Таблиця 1

Схема досліду

Пшениця + Т-2 токсин (5 нг/г)				
Сорбенти	Зразки	Зразки, інкубовані 1 год	Зразки, інкубовані 2 год + шлунковий сік	Зразки, інкубовані 3 год+шлунковий сік+жовч
	pH=6,5	pH=4,8	pH=2,5	pH=5,5
Контроль	К1	К2	К3	К4
Цеоліт	Д5	Д5'	Д5''	Д5'''
Мікотокс	Д6	Д6'	Д6''	Д6'''
Кормосан	Д7	Д7'	Д7''	Д7'''
Аеросил	Д8	Д8'	Д8''	Д8'''

Контролем (К1-К4) були зразки, в які не вносили досліджувані препарати. До всіх інших груп додавали сорбенти у концентраціях, рекомендованих виробником. Для відтворення умов травного тракту курей сформовано наступні групи: Д5-Д8 — не піддавали жодним маніпуляціям; Д5'-Д8' — інкубували впродовж години; Д5"-Д8" — інкубували 2 год з додаванням шлункового соку; Д5'''-Д8''' — інкубували 3 год з додаванням шлункового соку і жовчі. Шлунковий сік і жовч додавали у співвідношеннях, які відповідають фізіологічним нормам відповідних відділів травної системи курей.

Результати й обговорення

Отримані результати вказують, що ячмінь та кукурудза були природно контамінованими Т-2 токсином у концентраціях 1,8 нг/г та 0,15 нг/г відповідно. Виявлення токсину при додаванні відповідних аліквот, становило 85–133 %, у зв'язку з природною контамінацією зразків. У результаті експериментів встановлено, що виявлення мікотоксинів було в горосі (101 %) та пшениці (98 %). Оскільки основним компонентом комбікормів птиці є пшениця, дослідження ефективності сорбентів на вміст токсину проводили у цій злаковій культурі. Виявлення НТ-2 токсину згідно з методикою ІФА — 45 %. Одержані дані свідчать, що рівень НТ-2 токсину з урахуванням природної контамінації становив 42–57 %.

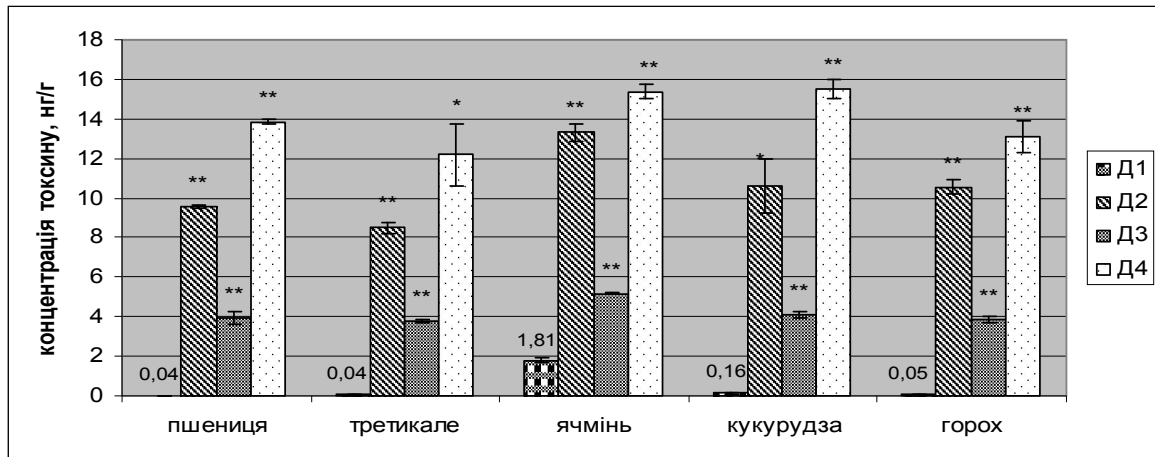


Рис. 1. Вміст Т-2 та НТ-2 токсинів у різних компонентах кормів.
Примітка: *, ** — вірогідність різниці між групою Д1 та дослідними групами Д2-Д4 (* — $p < 0,01$; ** — $p < 0,001$)

На наступному етапі досліджень (рис. 2) встановлено, що за умов додавання сорбентів до корму, контамінованого Т-2 токсином, найвищими показниками сорбційної здатності характеризується аеросил (виявлено 53 % від доданого Т-2 токсину (Д8)). Подібний, проте слабший ефект спостерігався і у дослідних зразках з цеолітом (Д5) та «Кормосаном» (Д8) (на 28 і 23 % відповідно). У зразках груп Д5'-Д8' концентрація Т-2 токсину не зазнавала достовірних змін у порівнянні з групами зразків, які не інкубували (Д5-Д8). У зразках групи Д5"-Д8", які відповідали

шлунковому відділу травного тракту (рН 2,6), достовірне зниження концентрації Т-2 токсину спостерігалось лише з аеросилом Д8" ($p < 0,001$). У зразках з «Кормосаном» (Д7") зниження вмісту токсину було найменш вираженим у порівнянні з контролем ($p > 0,1$). Це може бути зумовлено деактивацією основних компонентів препарату (зокрема дріжджів) у кислому середовищі. Після наступної інкубації, при рН-5,5 відбувалось достовірне зниження концентрації токсину за дії «Кормосану» (Д7''') і аеросилу (Д8''') на 24 і 38 % відповідно ($p < 0,1$).

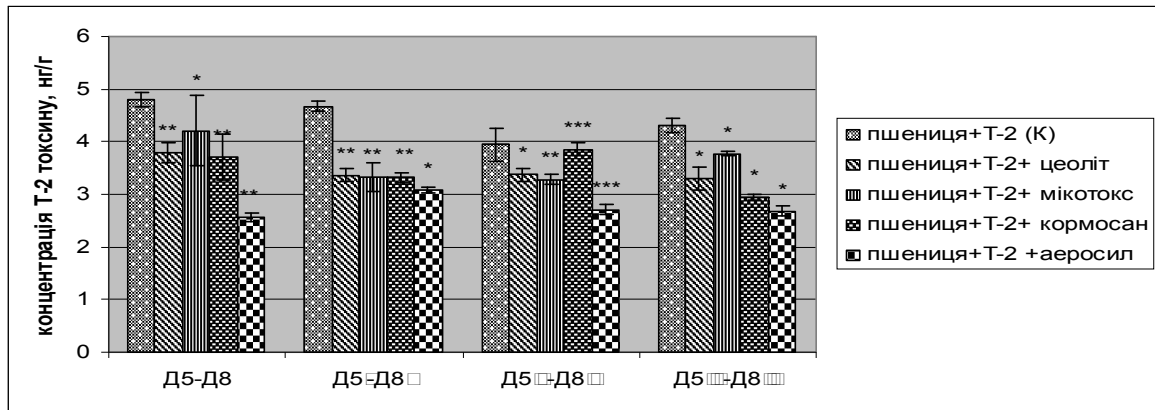


Рис. 2. Концентрація Т-2 токсину в пшениці за умов додавання різних сорбентів.

Примітка: *, **, *** — вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами ($p < 0,1$ — *; $p < 0,01$ — **; $p < 0,001$ — ***)

Висновки

Таким чином, у ході експериментальних досліджень встановлено, що найвищими показниками сорбційної здатності Т-2 і НТ-2 токсину характеризувався «Кормосан» і аеросил, разом з тим, беручи до уваги результати у всіх дослідних групах при різних значеннях рН, найефективнішим сорбентом є аеросил, який нейтралізує 47, 34, 45 і 38 % токсину у групах Д8-Д8^{III} відповідно.

Перспективи подальших досліджень. Наступні дослідження варто спрямувати на перевірку отриманих даних щодо ефективності аеросилу на лабораторних тваринах і птиці.

1. Kotik A. N., Trufanova V. A. Profilaktika mikotoksikoziv ptitsi [Prevention of poultry mycotoxicosis.]. *Tvarinnitsvo Ukrainy — Livestock Ukraine*, 2001, № 4, pp. 20–21 (in Ukrainian).

2. Diaz G. J., Squires E. J., Julian R. J. et al. Individual and combined effects of T-2 toxin and DAS in laying hens. *Br. poult. Sci.*, 1994, Vol. 35, pp. 394–405.

3. Artyuh V. P., Goyster O. S., Hmelniyskiy G. A., Starodub N. F. Trihotetsenovyie mikotoksinu: opredelenie v objektah okruzhayushey sredi [Trichothecene micotoxins: determination in environment]. *Biopolimeri i klitina — Biopolymers and cell*, 2003, T. 19, № 3, pp. 216–222 (in Ukrainian).

4. Ivanov A. V., Tremasov M. Ya., Papunidi K. H., Chulkov A. K. Mikotoksikozi zhivotnyih (etiologiya, diagnostika, lechenie, profilaktika) [Mycotoxicosis of animals]. M., Kolos, 2008. 140 p. (In Russian).

5. Kotik A. N. *Mikotoksikozyi ptits* [Mycotoxicosis of poultry]. Borki, Donechchina, 1999. 267 p. (In Russian).

6. Fisnin V. I., Suray P. Mikotoksiny i antioksidanty: neprimirimaya borba (T-2 toksin – mehanizmi toksichnosti i zaschita). [Mycotoxins and antioxidants: an uncompromising struggle (T-2 toxin - mechanisms of toxicity and protection).]. *Veterinarnaya meditsina — Veterinary medicine*, 2012, № 3, pp. 36–39 (in Russian).

7. Yansen L., Zhanhui W., Ross C. et al. T-2 toxin, a Trichothecene Mycotoxin: Review of Toxicity, Metabolism, and Analytical Methods. *Agric. food chem.*, 2011, N 59, pp. 3441–3453.

8. Konigs M., Mulac D., Schwerdt G. et al. Metabolism and cytotoxic effects of T-2 toxin and its metabolites on human cell in primary culture. *Toxicology*, 2009, N 258, pp. 106–115.

9. Sklan D., Klipper E., Friedman A. The effect of chronic feeding of diacetoxyscirpenol, T-2 toxin, and aflatoxin on performance, health, and antibody production in chicks. *Poultry Science Association.*, 2001, N. 10, pp.79–85.

10. Wyatt R. D., Doerr J. A., Hamilton P. B., Burmeister H. R. Egg production, shell thickness, and other physiological parameters of laying hens affected by T-2 toxin. *Appl. Microbiol.*, 1975, vol. 29, N. 5, pp. 641–645.

11. Trufanov O. V. HT-2 toksin rasprostranennyiy faktor zagryazneniya zerna v Ukraine [HT-2 toxin is a common factor of contamination of grain in Ukraine] *Ptahivnitstvo — Poultry farming*, 2005, V. 57, pp. 450–454 (in Russian).

12. Sudakin D. L. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters*, 2003, N. 143, p. 97–107.

13. Pogrebnyak L. I., Korzunenko O. F., Obrazhey A. F., Grachov S. O. Profilaktika mikotoksikoziv silskogospodarskih tvarin [Prevention of animals mycotoxicoses]. *Visnik agrarnoyi nauki — Journal of Agricultural Science*, 2000, № 10, pp. 25–27 (in Ukrainian).