



Автор настоящей статьи доктор биологических наук, профессор Крюков Валерий Сергеевич в 1983 году организовал во ВНИТИП первую в СССР лабораторию, которая разрабатывала методы профилактики микотоксикозов. Было развито оригинальное направление по изучению биохимического механизма действия микотоксинов на животных. Разработаны способы лечения микотоксикозов, которым до настоящего времени нет аналогов. В.С. Крюков впервые в мировой науке описал механизм формирования хронического афлатоксикоза у цыплят. В 1993 году коллективом лаборатории под его руководством были разработаны и изданы рекомендации по профилактике микотоксикозов. В 2013 г впервые обоснована оценка действия микотоксинов на организм при совместном их присутствии в корме.

О профилактике полимикотоксикозов.

В.С. Крюков. Профессор, доктор биологических наук

В 2010 году была опубликована статья, содержащая материалы » круглого стола, проведённого журналом «Комбикорма, под названием: «К вопросу о контроле содержания микотоксинов в кормах». Обсуждение было разносторонним: касались как биологических проблем, методов анализа, эффективности существующих на рынке адсорбентов, так и главного: отношения к ним руководителей животноводческих хозяйств. Пессимистично обрисовал сложившуюся ситуацию А. Топчин, по словам которого руководители свиноводческих хозяйства неохотно соглашались на тестирование комбикормов на микотоксины. Так, в 2009 году был предложен бесплатный анализ кормов на наличие микотоксинов, то только три хозяйства прислали образцы для испытаний. Остальные отмахнулись, сказав, что у них и так все хорошо, а другие сказали: у нас этот показатель так зашкаливает, что не хотим позориться. Это свидетельствует о недостаточной осведомлённости и профессиональной грамотности специалистов в этом направлении и, поэтому слабому вниманию к проблеме. Иногда при посещении хозяйств на вопрос о микотоксинах можно услышать: «Да мы в прошлом году отправляли на анализ ... на эти ... афлатоксины, но ничего не нашли». Как можно это комментировать? Во-первых: микотоксины отождествляются с понятием «эти ... афлатоксины», то есть с одним из микотоксинов, который чаще всего упоминают в популярной литературе. Часто о нём говорят продавцы адсорбентов, поскольку все они активно связывают афлатоксины, тогда как другие токсины адсорбируются слабо, поэтому и говорят о них редко. Потребуется ещё немало времени, когда научные разработки, а не рекламная информация станут основанием для принятия решений. Во-вторых: продуцент афлатоксинов *Aspergillus flavus* распространён в теплом и влажном климате и практически нет его в российских кормах, поэтому искать их в отечественных кормах малопродуктивное занятие. При таком уровне знаний в среде практиков создаётся впечатление о ложном благополучии. Даже у высоко подготовленных специалистов нет чёткого представления об обоснованности применения адсорбентов. Это свидетельствует о сложности проблемы и недостатке качественной доступной информации. Так один из участников круглого стола высказал мнение, что ощутимый эффект от применения адсорбентов достигается при норме их ввода не менее 1%. «...прирост, например, птицы повышается до 4% и более при вводе сорбентов в корма, в которых содержание микотоксинов превышает максимально допустимый уровень (МДУ). Но их применять нецелесообразно там, где микотоксины находятся в безопасном для животных количестве, то есть ниже МДУ или на его уровне». В этом

утверждении не принято во внимание, что ни один разработчик и поставщик адсорбентов не рекомендуют включать в корма 10 кг/т адсорбента. Предлагаемые дозы находятся в пределах 0,5 - 3 кг/т. Надо всегда помнить, что адсорбенты – это средства профилактики, а не лечения микотоксикозов! Нельзя согласиться с мнением о том, что применение адсорбентов эффективно только в тех случаях, когда уровень какого-то микотоксина превышает МДУ. Распространенное убеждение, что адсорбенты необходимо применять в тех случаях, когда уровень микотоксинов в корме превысит МДУ является неверным. После скармливания корма, в котором уровень токсинов превышен, животные заболеют. Микотоксикоз – это заболевание, выражающееся в нарушении обмена веществ под влиянием поступивших в организм токсинов. Это следствие действия микотоксинов внутри организма. Адсорбенты не всасываются и поэтому не могут действовать на токсины, попавшие в организм, то есть они не являются и не могут быть средством для лечения микотоксикозов – таких препаратов не существует. Потому что адсорбенты применяют только как средство для профилактики заболевания путём ограничения поступления микотоксинов в организм, то есть для предупреждения микотоксикозов, а не их лечения. Это мнение сформировалось в результате недостаточного понимания стратегии применения адсорбентов и методологии оценки феномена МДУ, которые определены только по отношению к наиболее изученным токсинам. МДУ - это максимальные концентрации микотоксинов в потребляемых кормах, не вызывающие регистрируемых современными клиническими или биохимическими методами негативных изменений - их принято считать безвредными. На МДУ влияет пол, возраст, условия содержания, физиологическое состояние и вид животного.

У животных, потребляющих корма с содержанием токсина ниже МДУ, поступающий в организм микотоксин, инактивируется системой метаболизма ксенобиотиков и поэтому не оказывает видимого влияния. К ксенобиотикам или чужеродным для организма веществам относятся микотоксины, и вещества антропогенного происхождения: лекарства, синтетические антиоксиданты, красители и некоторые другие (Парк Д. 1973; Sheweita S. A. 2000; Galtier P. et al., 2008). Система защиты от чужеродных веществ не обладает узкой специфичностью и инактивирует в организме многие чужеродные вещества. Эндогенная детоксикация различных микотоксинов протекает с неодинаковой скоростью и отличается она и у животных разных видов для одного и того же токсина (Adav S.S. Govindwar S.P. 1997; Ramsdell H. S. and Eaton D. L. 1990). Этим в определённой мере определяются различные величины МДУ для отдельных микотоксинов. Система детоксикации имеет ограниченные возможности, от которых и зависит МДУ. Если обратиться к диаграммам взаимодействия микотоксинов в организме свиней и птиц, то заметим, что они не одинаковы. Для дальнейшего обсуждения примем, что МДУ – это одна единица действия, за которой стоят различные и конкретные величины массы для каждого микотоксина и для каждого вида животных.

Австрийскими исследователями в течение 3 лет с 2009 по 2011 год было изучено 7049 образцов зерна и комбикорма - всего был проведен 23871 анализ на содержание афлатоксина, зеараленона, дезоксиниваленола, фумонизина и охратоксина. (Rodrigues I. and Naehrer K. 2012). Из проведенных исследований авторы сделали вывод, что 76% комбикормов были поражены микотоксинами. На американском и европейском континентах 39 и 40% комбикормов содержали несколько микотоксинов, а в Азии эта доля возростала до 82%. Из полученных результатов следует, что на практике часто встречается не микотоксикоз, вызываемый каким-либо одним микотоксином, а реальную угрозу представляют полимикотоксикозы. Кроме ряда стран Юго-восточной Азии,

афлатоксин не является преобладающим микотоксином, тем более, что с учётом климата России не нужно «пугать» россиян этим токсином.

В России проблемой остаётся достоверность методов определения микотоксинов. Лаборатории приобретают наиболее дешёвые наборы, которые выдают сомнительные результаты с большой погрешностью. Иммуноферментный анализ, широко используемый во всем мире, для определения микотоксинов, даёт точные результаты не для всех объектов испытаний. Именно поэтому ELISA используется как скрининговый метод, а анализ микотоксинов с высокой точностью и чувствительностью проводится только с применением ВЭЖХ или ГХ.

Во Франции компанией «Олмикс» был проведён анализ этих же образцов самым совершенным в настоящее время методом: жидкостной хроматографией с масс-спектрометрией (LC-MS/MS). В результате анализа было обнаружено 43 (сорок три!) различных микотоксина. Это не является неожиданностью, так как микроскопические грибы и их метаболиты – микотоксины являются частью окружающего мира. В протоколе анализа из Франции микотоксины делят по группам: микотоксины, продуцируемые полевыми грибами. Это большое количество микотоксинов, образуемых грибами *Fusarium sp.* В первую очередь это трихотецены типов А, В и D. К токсинам, продуцируемым полевыми грибами также относятся зеараленон, фуманизин и монилоформин. Грибы рода *Fusarium sp.* включают ряд видов и множество штаммов - они поражают растения в поле во время их роста и формирования урожая. В результате анализа было обнаружено 19 микотоксинов, продуцируемых грибами этого рода.

Грибы рода *Alternaria*, которые поражают до 60% зерна в России, так же относят к полевым, но они продолжают паразитировать на зерне и несколько первых недель после уборки зерна во время хранения. Поэтому ввиду биологических особенностей грибы этого рода относят одновременно к полевым и складским. В группу полевых и складских попадают грибы рода *Claviceps sp.*, по результатам лабораторного анализа было обнаружено 6 продуцируемых ими микотоксинов – эрготоксинов. Обнаружено 30 наименований микотоксинов образованных полевыми грибами. Наличие микотоксинов, продуцируемых полевыми грибами, зависит от сортового состава зерновых культур, климатических условий и агротехнологии. Ко времени уборки уже невозможно повлиять на содержание токсинов в зерне, поэтому они всегда присутствуют в кормах. Впервые были получены результаты анализов, указывающие на высокое содержание в кормах теназуновой кислоты, содержание которой достигало 2440 мкг/кг. Её МДУ для кур и свиней не установлена, известно лишь, что она не менее токсична, чем фузариотоксины.

Из токсинов, характерных для складских грибов, были обнаружено 4 афлатоксина, концентрация каждого была ниже 10 мкг/кг, 3 охратоксина - их содержание было значительно ниже МДУ, однако кроме них были обнаружены: веррукулоген – 20 мкг/кг, циклопиазоновая кислота - 50 мкг/кг, цитринин - 50 мкг/кг, патулин – 10 мкг/кг и стеригматоцистин – 10 мкг/кг. Для последней группы микотоксинов, кроме афлатоксина и охратоксина, МДУ для кур и свиней не разработаны. В целом в результате анализов во всех образцах кормов были обнаружены микотоксины в разной концентрации. Количеством, обнаруженных в кормах микотоксинов, список не исчерпывается – он ограничен аналитическими возможностями лаборатории в текущее время. В списке обнаруженных микотоксинов приведены названия некоторых токсинов, с которыми специалисты в России не встречаются и, тем более, большая часть из них совершенно не знакома российским практикам.

Каков же смысл выше приведенной информации, если содержание большинства микотоксинов в кормах было ниже МДУ? Если величины МДУ для разных веществ сильно разнятся, то, как же учесть их действие на животных, при полимикотоксикозе? Рассмотрим следующий пример. В комбикорме для цыплят-бройлеров было обнаружено несколько микотоксинов: концентрация каждого из них не превышала МДУ (таблица 1).

Таблица 1 Результаты анализа комбикорма на содержание микотоксинов.

Микотоксины, мг/кг	Комбикорма		Принятый МДУ
	Стартер	Гроуэр	
Афлатоксин В ₁	0,02	0,005	0,025
Дезоксиниваленол (ДОН)	0,40	0,54	1,00
Т-2 токсин	0,04	0,042	0,10
Охратоксин А	0,004	0,004	0,01
Фумонизин	1,00	3,50	5,00
Сумма токсинов, мг/кг	1,464	4,091	-

Оценивая комбикорм по каждому микотоксину в отдельности с позиции действующих нормативных документов, можно отметить, что поскольку концентрация токсинов не превышала уставленных величин МДУ, то можно заключить, что корм вполне благополучный. Учитывая, что разные микотоксины инактивируются в организме одновременно одной системой метаболизма ксенобиотиков, то при наличии нескольких микотоксинов в корме, нагрузка на эту систему возрастёт. Достаточно ли в этих условиях возможностей у этой системы для защиты организма? Как же оценить действие такого корма на животных? Сумма массы микотоксинов в стартере составила 1,464, а в гроуэре 4,091 мг/кг, то есть сильно разнилась. Увеличение суммы токсинов в гроуэре обусловлено тем, что в нём на 2,5 мг/кг возросло содержание фумонизина, но оно оставалось ниже МДУ. Таким образом, суммирование весовых количеств микотоксинов в корме не даёт основания для его объективной оценки. Превратим массовые значения содержания микотоксинов из таблицы 1 в доли МДУ (таблица 2).

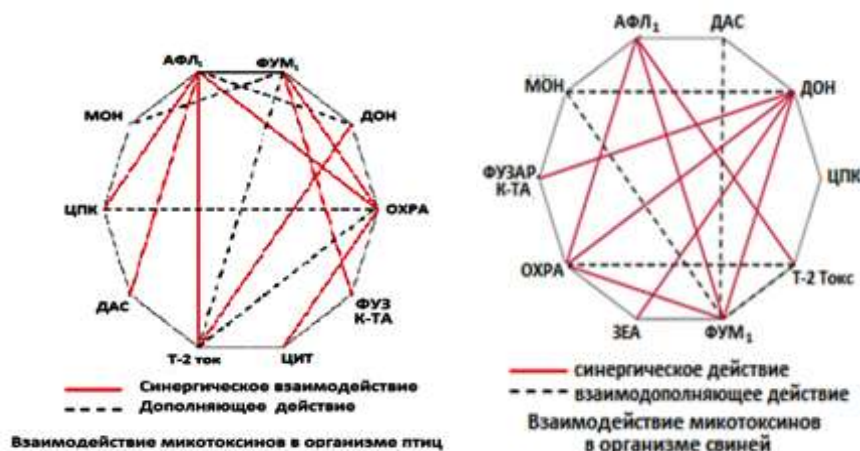
Таблица 2. Содержание микотоксинов в комбикорме, выраженное в долях МДУ

Микотоксины в долях МДУ	Комбикорма	
	Стартер	Гроуэр
Афлатоксин В ₁	0,8	0,2
Дезоксиниваленол (ДОН)	0,4	0,54
Т-2 токсин	0,4	0,42
Охратоксин А	0,4	0,4
Фумонизин	0,2	0,7
Сумма токсинов по долям МДУ	2,2	2,26

Из расчётов, приведенных в таблице 2, видно, что токсичность кормов по сумме долей МДУ оказалась одинаковой и превышала единицу. Из этого следует, что доброкачественным такой корм назвать нельзя.

Ещё в 80 годах прошлого столетия в исследованиях с чистыми токсинами было установлено, что при совместном присутствии в корме, они взаимно дополняют или

усиливают влияние друг друга (Adav S.S. Govindwar S.P. 1997; Ramsdell H. S. and Eaton D. L. 1990) и суммарный негативный эффект был равен или даже выше, чем рассчитано по их долям.



(Perdosa R. and Borutova R. Feedstuffs, may 9, 2011)

Это объясняется с точки зрения биохимии превращения токсинов в организме. Так, среди микотоксинов в кормах для птицы, самый низкий допустимый уровень афлатоксина. Это обусловлено тем, что его скорость метаболизма системой детоксикации ниже, чем других токсинов и он, связываясь с её ферментами, ограничивает доступ к ним других микотоксинов. В результате последние будут более длительное время находиться в организме, проявляя негативное действие. Незавершённые продукты образования микотоксинов (предтоксины) также создают нагрузку на систему эндогенной детоксикации, и усиливают негативное воздействие токсинов на животных, но их эффект количественно не может быть учтен.

Неожиданная мысль, которая вытекает из проведенного анализа кормов на содержание микотоксинов, заключается в том, что само «начало» скармливания кормов, поражённых микотоксинами, определить практически невозможно. Причина довольно проста - это «начало» не существует, поскольку животные находятся в постоянном контакте с микотоксинами. Можно обсуждать только вопрос их концентрации.

На мировом рынке присутствует много различных адсорбентов. (Крюков В.С.2011) Это свидетельствует о том, что продукты эти востребованы. В среде большой конкуренции появляются всё новые адсорбенты. Часто новые продукты являются таковыми только по названию, так как они произведены на основе известных природных материалов, обладающих адсорбционными свойствами. Чтобы как-то отличить новый коммерческий продукт от уже имеющихся на рынке, производители добавляют к известным природным адсорбентам витамины, или микроэлементы, или органические кислоты, обосновывая вносимые изменения значимостью добавляемых веществ. В результате рынку предлагают новый коммерческий продукт. В этом случае больше рассчитывают на психологическое воздействие на покупателя – никто не будет оспаривать роль биологически активных веществ, но дело в том, что добавленные к адсорбентам витамины, микроэлементы или другие биологически активные вещества не влияют на адсорбцию микотоксинов. Создание новых более эффективных продуктов требует не коммерческих ухищрений, а серьёзных и дорогих исследований. Позволить себе большие расходы может ограниченное количество компаний.

Прямую оценку свойств адсорбентов обычно проводят только *in vitro*, потому что *in vivo* возможна только косвенная оценка – по продуктивным показателям животных. Первый способ требует мало времени и затрат, а также нагляден, однако он не отражает реальной ситуации, которая складывается в кишечнике, поэтому получаемые цифры, не позволяют объективно охарактеризовать адсорбент по действию на животных. Главный недостаток оценки *in vitro* заключается в том, что не существует унифицированной общепринятой методики оценки адсорбентов, поэтому результаты разных авторов несравнимы. Полученные данные невозможно перенести на животных (Huebner, H. et al. 1999;). Это обусловлено тем, что исследования *in vitro* проводят в «закрытой системе», то есть в «пробирке». В этой системе содержание адсорбента, микотоксина и растворителя не изменяется. Степень адсорбции зависит от количества адсорбента и, повысив его дозу, легко увеличить количество связанного токсина. Манипулируя этими параметрами можно достичь желаемой степени адсорбции микотоксина. Поставщики предоставляют данные по адсорбции микотоксинов с единственной целью – показать свой продукт в выгодном свете и, как указано ранее, обычно приводят данные по адсорбции афлатоксина, хотя трудно найти адсорбент, который слабо связывает афлатоксин. Обобщение научных данных показало полное отсутствие связи, что между результатами *in vitro* и биологической эффективностью адсорбентов (Lemke et al. 1998, 2001). Кишечник животного представляет «открытую систему», то есть систему с меняющимся составом, в которой содержание веществ в химусе характеризуется большим разнообразием, и их концентрация постоянно меняется: после потребления корма в процессе переваривания, освобождаются связанные микотоксины, меняется концентрация аминокислот, жирных, желчных кислот, которые снижают связывание токсинов адсорбентом.

В ограниченном числе зарубежных лабораторий пользуются динамической моделью желудочно-кишечного тракта. На этой модели изучают переваримость и всасывание любых питательных веществ. Только она позволяет хорошо отслеживать всасывание микотоксинов, поэтому в таких условиях можно определить влияние того или иного адсорбента на всасывание токсинов и, таким образом, рассчитать количество связанного токсина.

Первое десятилетие использования адсорбентов (1980 - 1990 годы) позволило установить, что в большинстве случаев адсорбенты хорошо связывают афлатоксин и очень слабо микотоксины трихотеценовой группы (ДОН, Т-2 токсин, ниваленол и другие – всего около 50 наименований), фумонизин, зеараленон и другие микотоксины с большим размером молекул и слабой полярностью адсорбируются на 2 -8 % от содержащихся в корме и в одном известном нам случае было указано – 18%. В научной литературе можно найти несколько ссылок на эту тему.

Для решения проблемы обусловленной слабой адсорбцией трихотеценовых микотоксинов, в мировой науке развивается два направления:

Первое – более раннее, (1985 г и по настоящее время) основано на добавлении к известным природным адсорбентам, ферментов, которые разрушают эпоксидную группу у трихотеценовых микотоксинов. Реже используют другие ферменты. В результате действия ферментов микотоксины превращаются в нетоксичные или слабо токсичные вещества. Однако эти вещества всасываются, и создают нагрузку на систему метаболизма ксенобиотиков, и, таким образом, косвенно вызывают негативные последствия, поскольку они не проявляя токсичности, сокращают возможности детоксикации других

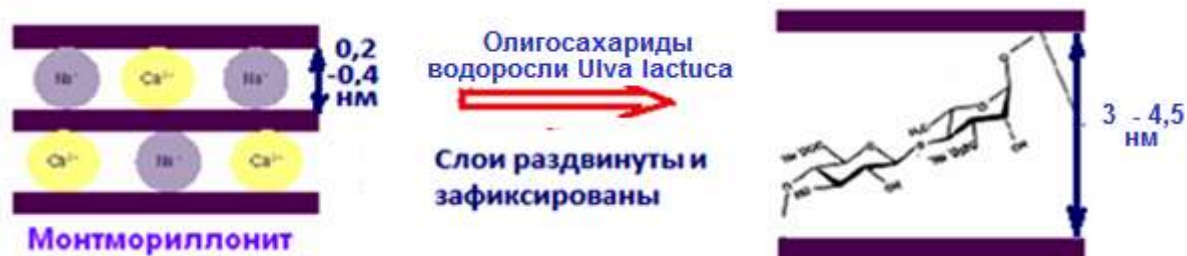
микотоксинов с крупным размером молекул, которые присутствуют в кормах, но не имеют эпоксидной группы. Пионером разработок в этом направлении является фирма «Биомин». За первым разработчиком этого направления появились последователи, в результате адсорбенты, с добавкой ферментов, предлагают рынку несколько фирм. Наверно, не все разработки являются оригинальными, - в некоторых случаях это копии.

Непосредственно определить количество микотоксинов, модифицированных ферментами, можно только *in vitro* (закрытая система), но переносить эти результаты на животных (открытая система) можно с большой осторожностью. Не изучено влияние на организм дезоксидированных трихотеценов, да и не установлен *in vivo* сам размер дезоксидирования. Такой информации разработчики продуктов не представляют.

Второе – более молодое направление (2000 – 2005 годы) основано на разработке способа модификации структуры природных адсорбентов с целью увеличения связывания микотоксинов с крупным размером молекул. Судя по научным публикациям и патентам, в этом направлении пока работает только компания «Олмикс», которая добилась реальных успехов (Hervé D. 2006)

Адсорбционную способность слоистых минералов можно повысить, увеличив расстояние между слоями до размера, сопоставимого с размером молекул микотоксинов, вырабатываемых грибами родов *Fusarium*, *Penicilium* и *Ochraceus*. Это сложная проблема, так как необходимо манипулировать слоями минерала на уровне наноразмера.

В природном монтмориллоните расстояние между слоями 0,25 – 0,4 нанометра. Специалисты «Олмикс» эти слои раздвинули и, используя олигосахариды строго определённого размера, выделенные из морской водоросли *Ulva lactuca*, зафиксировали их на расстоянии 2 - 4 нм. Полученный продукт получил название «Амадеит».



Природный монтмориллонит.

Амадеит.

Он является основным действующим веществом в адсорбенте микотоксинов при производстве коммерческого препарата М-Токс⁺ Международный патент: (<http://www.faq.org/patents/app/20080213455>). До настоящего времени в мировой практике у других производителей отсутствуют препараты, с модифицированной таким образом структурой монтмориллонита (или другого слоистого минерала) с адсорбционными свойствами. Созданный препарат М-Токс⁺ сохранил способность к связыванию полярных токсинов с малым размером молекул и приобрёл возможность связывать микотоксины трихотеценовой группы и другие токсины с крупным размером молекул. Его свойства по дополнительному связыванию микотоксинов трихотеценовой группы обусловлены не только адсорбцией, а также молекулярно-ситовым эффектом и, поэтому токсины не подвержены десорбции при прохождении отделов желудочно-кишечного тракта с разным рН. До настоящего времени в мировой практике отсутствуют препараты, с модифицированной аналогичным образом структурой монтмориллонита.