

ОЦЕНИВАТЬ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДсорбЕНТОВ НУЖНО РЕАЛЬНО

В. КРЮКОВ, д-р биол. наук, компания Olmix

В №4 за 2014 г. была опубликована статья под названием «Нужно ли оценивать эффективность сорбентов» (автор Е.Я. Головня). Она явилась ответом на отзыв В.С. Крюкова о публикации Малкова и соавторов (2011) «Микотоксины — стратегия устранения их влияния на организм сельскохозяйственных животных и птицы», помещенную на отраслевом портале *WebPticeProm.ru*. Основное содержание статьи Е.Я. Головни посвящено отстаиванию достоинств методики определения практического коэффициента полезного действия адсорбентов (ПКПД). Принцип методики основан на измерении адсорбции микотоксинов *in vitro* при pH 1,2, а затем их десорбции при pH 7,4. Ссылаясь на неназванного автора, Елена Яковлевна повторяет утверждение о существовании корреляции между результатами, полученными при измерении величины адсорбции микотоксинов *in vitro* и результатами исследований *in vivo*. Однако это утверждение противоречит многочисленным публикациям зарубежных исследователей.

Для подтверждения достоинств метода определения ПКПД параллельно с исследованиями *in vitro* необходимо было испытать на животных хотя бы 2–3 разноплановых адсорбента, а также представить доказательства утверждению, что адсорбенты в дозах до 0,5% неэффективны. Укажем, что Европейская Комиссия по кормам определяет рабочие дозы адсорбентов в диапазоне 0,05–0,3% и не рекомендует превышать верхний предел (EFSA, Journal 2011, 9). Следует также помнить и о более чем трех десятках наставлений по применению адсорбентов, утвержденных Россельхознадзором, в которых дозы адсорбентов укладываются в названный выше диапазон. Разработчики адсорбентов в регистрационных досье приводят обоснования рекомендуемых доз. В основном они составляют 1–2 кг на 1 т корма.

Методика определения ПКПД, так же как и другие варианты определения адсорбции микотоксинов *in vitro*, с определенными ограничениями может быть применена только для прогнозирования эффективности связывания адсорбентами афлатоксина. Обширный материал по оценке и применению адсорбентов приведен на сайте: www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/22e.pdf. Что касается других микотоксинов, то результаты многочисленных исследований разочаровали ученых. Так, в исследованиях *in vitro* было установлено, что бентонит и гидратированные натрий-кальциевые алюмо-

силикаты (ГНКАС), филосиликаты и цеолит эффективно связывали ряд микотоксинов, но оказывались неэффективными при испытаниях на животных (Plank и соавт., 1990; Huff и соавт., 1992; Williams и соавт., 1994; Dwyer и соавт., 1997; Lemke и соавт., 2001; Garcia и соавт., 2003; Bueno и соавт. 2005, и многие другие).

Органические адсорбенты были предложены рынку позднее, чем минеральные, и в ряде случаев действительно показали свое преимущество над ними. В исследованиях *in vitro* было установлено, что они лучше связывали зеараленон и Т-2 токсин (Swamy и соавт., 2002; Aravind и соавт., 2003; Freimund и соавт., 2003; Bursian и соавт., 2004; Swamy и соавт., 2004; Yiannikouris и соавт., 2004), но в опытах на животных не всегда улучшали продуктивность. Профессор Витлоу из университета Северной Каролины, обобщив научные публикации, пришел к выводу о невозможности надежно спрогнозировать эффективность адсорбентов на основе их тестирования *in vitro* (Whitlow, 2006).

В мировом научном сообществе не существует общепринятой методики измерения адсорбционной способности *in vitro*, хотя ее принцип у всех авторов одинаков. В каждом случае исследователи самостоятельно определяют концентрацию токсинов в инкубационной среде, их перечень, количество внесенного в среду адсорбента, состав среды и ее pH, время инкубации и другие детали, которые приводят к несопоставимым результатам (см. таблицу).

Уменьшение кислотности среды с pH 4,5 до 6,6 не оказало существенного влияния на адсорбцию как отдельных микотоксинов, так и их комбинаций. Количество микотоксинов, связанных адсорбентом в одних и тех же условиях, изменялось в следующем порядке:

- афлатоксин < Т-2 токсин < охратоксин;
- было максимальным, если в среде присутствовал только один токсин;
- снижалось в случае присутствия в среде нескольких микотоксинов;
- адсорбция афлатоксина под влиянием Т-2 токсина снижалась активнее, чем под влиянием охратоксина;
- охратоксина связывалось почти в 2 раза меньше в присутствии афлатоксина или Т-2 токсина;
- адсорбция Т-2 токсина снижалась одинаково под влиянием афлатоксина и охратоксина;

Доля микотоксинов, связанных коммерческим адсорбентом *in vitro*, % (Manafi и соавт., 2009)

Микотоксины	Афлатоксин В1		Охратоксин А		Т-2 токсин	
	рН среды инкубации					
	4,5	6,5	4,5	6,5	4,5	6,5
Афлатоксин В1	90,7	94,7	—	—	—	—
Охратоксин А	—	—	61,7	63,1	—	—
Т-2 токсин	—	—	—	—	74,3	71,3
Афлатоксин В1+ охратоксин А	62,0	65,8	33,7	34,0	—	—
Афлатоксин В1+ Т-2 токсин	43,2	44,7	—	—	46,1	46,4
Охратоксин А + Т-2 токсин	—	—	34,1	34,1	45,3	47,5
Афлатоксин В1+ охратоксин А + Т-2 токсин	33,5	32,4	5,3	6,3	9,1	9,7

Примечание. Афлатоксин В1 — 0,5 мг/кг; охратоксин А — 1 мг/кг; Т-2 токсин — 2 мг/кг.
Среда инкубации представлена взвесью комбикорма в буферном растворе.
Название адсорбента автором не указано.

- увеличение числа микотоксинов с двух до трех привело к дальнейшему снижению адсорбции каждого токсина, уменьшая до незначительных величин связывание охратоксина и резко снижая адсорбцию Т-2 токсина;
- по мере снижения активности связывания микотоксинов: афлатоксин < Т-2 токсин < охратоксин более выражено снижалась их адсорбция под влиянием других микотоксинов.

Взаимодействие микотоксинов в организме суммируется, а иногда проявляется аддитивно, тогда как на уровне адсорбентов между ними проявляется выраженный антагонизм, поскольку они конкурируют за места связывания. Последнее очень важно для оценки практического действия адсорбентов, но эта сторона их действия остается слабо изученной как в разрезе отдельных микотоксинов, так и адсорбентов.

Отмеченные в таблице количественные изменения характерны только для конкретных условий эксперимента и зависят от количества микотоксинов в инкубационной среде, их соотношения и других факторов. Из этого следует, что даже в условиях *in vitro*, где четко контролируется концентрация и перечень микотоксинов, невозможно спрогнозировать величину их связывания. Ее можно только установить экспериментально в виде констатации. В практических условиях количество микотоксинов в кормах и их концентрация в каждом случае неповторимы, поэтому делать прогнозы об эффективности применения адсорбентов в кормлении животных на основании исследований *in vitro* невозможно.

Е.Я. Головня утверждает, что компания Olmix, доказывает эффективность своих адсорбентов теми же методами *in vitro*. Однако это утверждение неверно. Широко распространенный метод *in vitro*, используемый для измерения связывания микотоксинов адсорбентами, предусматривает протекание процесса в закрытой системе (пробирка или другой сосуд с непроницаемыми стенками). При этом концентрация микотоксинов и адсорбента в среде остается

постоянной. Эти условия не соответствуют тем, которые складываются в желудочно-кишечном тракте с его сложным и изменчивым составом. В компании Olmix свойства разрабатываемых адсорбентов изучали *in vitro* на компьютеризированной динамической системе (открытой), представляющей собой модель желудочно-кишечного тракта (см. рисунок). В ней химус, содержащий микотоксины и адсорбент, перистальтическим насосом перемещался по искусственному кишечнику, в котором не только рН, но и состав изменялся в соответствии с физиологическими параметрами животного.

Данную систему широко использовали Avantaggiato с соавторами (2003, 2004, 2005, 2007) для изучения влияния адсорбентов на всасывание микотоксинов и пришли к заключению, что их результаты хорошо согласуются с результатами, полученными на кишечнике свиней. Применяв этот метод, они установили, что Амадеит (активное действующее вещество адсорбентов компании Olmix) подавляет всасывание ДОН на 40%, фумонизина — на 50%, не уступая по этим показателям активированному углю (Herve, 2006). При этом не снижалась доступность витаминов, глюкозы и аминокислот по сравнению с контрольным вариантом, в среду которого Амадеит не добавляли.

Во французской государственной лаборатории в сырье и кормах контролируют содержание 42 микотоксинов, что дает больше информации для оценки качества и, соответственно, принятия решения о необходимости применения адсорбентов. Аналитические же возможности российских лабораторий ограничены скрининговым методом — ИФА-анализом, который позволяет определять содержание только шести микотоксинов, отличается невысокой точностью и слабым совпадением результатов анализа при использовании тест-наборов от разных производителей (Тужикова, Титова, 2011). В связи с ограниченными возможностями риск использования токсичного сырья для производства кормов значительно выше, чем в европейских странах.

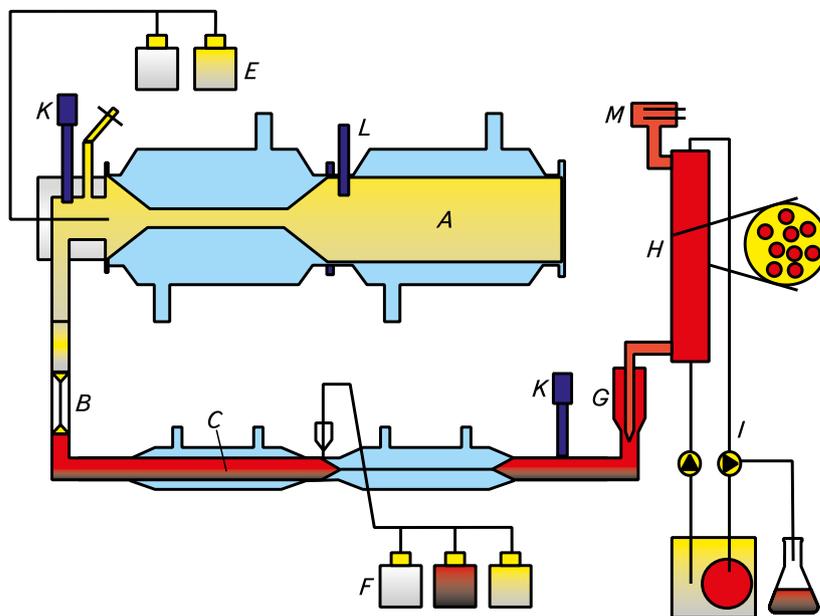
При исследованиях следует учитывать, что на точность определения содержания микотоксинов в кормах влияют

адсорбенты, поскольку они связывают часть микотоксинов. Однако в зарубежных публикациях иногда встречается утверждение обратного (А. Kolossova и соавт., 2009). С этим нельзя согласиться, так как оно отвергается множеством результатов анализов по оценке связывания микотоксинов *in vitro* на фоне комбикормов и противоречит самой идее применения адсорбентов. Таким образом, корма, отправляемые для исследований на микотоксины, не должны содержать адсорбентов.

Специалисты хозяйств большей частью считают необходимым применение адсорбентов микотоксинов. Но затем по ряду причин меняют один из них на другой или приходят к неверным заключениям, что они вовсе бесполезны и от них следует отказаться. Последние решения, вероятно, обусловлены неправильным выбором данного продукта.

В условиях хозяйств на оценку эффективности адсорбента в первую очередь влияет концентрация микотоксинов в корме. Рассмотрим вполне вероятные две ситуации: первая — корма с низкой концентрацией, когда сумма микотоксинов находится в пределах МДУ, вторая — выраженная контаминация, когда сумма токсинов в 4–5 раз выше МДУ. При низкой контаминации эффективным может оказаться даже слабый адсорбент, и верным будет вывод: не надо переплачивать за более дорогой. При высоком содержании микотоксинов применение слабого адсорбента не обеспечит защиту животных и не окупит потраченные средства, вдобавок возрастут расходы на ветеринарные препараты, снизится продуктивность. В этом случае оправдывает себя продукт с выраженными адсорбирующими свойствами.

Чтобы обосновать выбор адсорбента в условиях хозяйства, необходимо располагать оперативными и достоверными сведениями о содержании микотоксинов в кормах. Для оценки его эффективности следует сформировать три группы животных, из которых одна получит корм без адсорбента, другая — с применяемым в хозяйстве адсорбентом, третья — с новым адсорбентом. На основании результатов испытаний специалисты смогут сделать вывод о преимуществе одного или другого и обосновать необходимость их использования. (Если нет такой необходимости, то для опыта достаточно двух групп животных.) Однако, оценив объем работы, связанной с испытаниями, и возможность практи-



**Динамическая модель пищеварительного тракта
(МПТ, или в оригинале TIM®)**

- А — отсек желудка с гибкой стенкой для перистальтических движений, вода вокруг него имеет температуру тела;*
- В — сфинктер привратника для контролируемого опорожнения желудка;*
- С — отделение тонкого кишечника с гибкой стенкой;*
- Е — секреция желудочного сока, слюны, желудочных ферментов и электролитов;*
- F — секреция желчи, панкреатического сока и бикарбонатов;*
- G — предварительный фильтр; H — диализ через полупроницаемую мембрану;*
- I — сбор диализата и адсорбция воды; K — pH-датчики; L — датчик давления;*
- M — датчик уровня.*

ческого ее выполнения, зоотехник или ветеринарный врач скорее откажется от такой затеи и воспользуется результатами тестирования адсорбента *in vitro*, которые, как было сказано выше, не дают реальных данных об эффективности адсорбента при кормлении животных.

Учитывая высокий неконтролируемый риск контаминации кормов, предпочтительнее применять адсорбенты, обеспечивающие надежную защиту животных от микотоксинов. Определить эту надежность можно, посетив производство поставщика адсорбента — серьезные фирмы предоставляют такую возможность своим потенциальным клиентам. Это рождает доверие. Также необходимо внимательно изучать наставления по применению препаратов — в них более достоверная информация, чем в рекламных проспектах и кратких изложениях наставлений. Очевидно, для принятия обоснованного решения придется потратить немало времени, но в этом и состоит работа специалистов.

В заключение выражаю глубокую благодарность Елене Яковлевне Головне за активную позицию, которая побудила еще раз вернуться к обсуждению важного вопроса. ■

E-mail: kryukov.v.s@mail.ru