

На правах рукописи

СЕМЁНОВ ЭДУАРД ИЛЬЯСОВИЧ

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЭН-  
ТЕРОСОРБЕНТОВ ПРИ СОЧЕТАННЫХ МИКОТОКСИКОЗАХ**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, миколо-  
гия с микотоксикологией и иммунология

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора ветеринарных наук

Казань 2019

Работа выполнена в отделе токсикологии ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (г. Казань)

Научные консультанты: **Папуниди Константин Христофорович** – заслуженный деятель науки РФ и РТ, доктор ветеринарных наук, профессор  
**Тремасов Михаил Яковлевич** – заслуженный деятель науки РТ, доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Ежков Владимир Олегович** – доктор ветеринарных наук, заведующий отделом био- и нанотехнологий в земледелии и животноводстве Татарского НИИАХП – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН  
**Попова Ольга Михайловна** – доктор биологических наук, заведующий кафедры Технологии продуктов питания ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ им. Н.И.Вавилова»  
**Уразаев Дмитрий Николаевич** – доктор ветеринарных наук, профессор ведущий научный сотрудник лаборатории иммунокоррекции при паразитозах ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН

Ведущее учреждение: ФГБОУ ВО "Башкирский государственный аграрный университет"

Защита состоится «27» декабря 2019 г. в 13<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.01 ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте <http://www.казветакадемия.рф>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г. и размещен на сайтах <http://www.vak.ed.dov.ru> и <http://kazanveterinary.ru>

Учёный секретарь диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Юсупова Галия Расыховна

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Микотоксикозы - заболевания, вызванные потреблением продуктов или кормов, контаминированных токсическими метаболитами микроскопических грибов (Саркисов А.Х., 1954; Спесивцева 1964; Титов В.В., Назыпов М.Н., 1968; Иванов В.Г., 1981; Хмелевский, Б.А. и др., 1985; Тремасов М.Я., 2002; Иванов А.В. и др., 2008, 2010; Кузнецов А.Ф., 2017; Папуниди К.Х. с соавт., 2018; Allcroft R, Carnaghan RBA, 1963; Binder, E.M., 2007). Микотоксины отличаются высокой токсичностью, а многие из них обладают мутагенными, тератогенными, канцерогенными и иммуносупрессивными свойствами (Тутельян В.А., Кравченко Л.В., 1985; Котик А.Н., 1999; Смирнов У.С. и др., 2001; Папуниди К.Х. с соавт., 2017; Hussein S., Brasel M., 2001; Sabina B. et al., 2017) В зависимости от классификации, сегодня известно 300-400 микотоксинов (Berthiller, F. et al., 2007), ряд авторов описывают уже 640 микотоксинов (Пинюгин А.В. и др., 2018). Интерес к этим широко встречающимся в природе химическим компонентам растёт вследствие их пагубного действия и увеличения данных о механизме действия (Сурай П.Ф. и др., 2017; Berthiller F. et al., 2013; Surai P.F. et al., 2017; Sabina B. et al., 2017).

Микроскопические грибы – продуценты микотоксинов, распространены практически повсеместно и загрязнение ими кормов, сельскохозяйственной продукции возможно на любом этапе производства, поэтому микотоксины считаются неизбежными контаминантами продуктов питания и кормов и являются общемировой проблемой (Кравченко Л.В., Тутельян В.А., 2005; Тремасов М.Я., 2009; Смирнов А.М., 2010; Папуниди К.Х., 2017; Дорожкин В.И., 2018; Фисинин В.И., 2019; Diaz D., 2006).

Наиболее часто корма загрязняются микотоксинами грибов рода *Fusarium* и *Aspergillus* (Смирнов А.М. и др., 1999; Монастырский, О.А., 2008; Пирязева Е.А. и др., 2016; Кононенко Г.П. и др., 2017; Sweeney M.J.; Dobson A.D.W., 1998; Gavrilova O. et al., 2016).

Во многих случаях микотоксины в контаминированном корме присутствуют в комбинации (Кононенко Г.П., 2005; Матросова Л.Е., 2007; Буркин А.А., 2015; Шантыз А.Х. и др., 2018; Grenier B., Oswald, I.P., 2011; Streit E. et al., 2012; Paula K. et al., 2016)

Имеются данные об увеличении токсического действия при одновременном поступлении в организм нескольких микотоксинов (Тремасов М.Я с соавт., 1995, 2002; 2004; 2012; Котик А.Н. 1999; Зинатуллин Р.Р. 1999; Кравченко Л.В. и др., 2000; Мусин Р.Р. 2002, Валиуллин Л.Р., 2008; Васильев В.Ф. и др., 2008; Антипов В.А. и др., 2016; Мирошниченко П.В., 2016; Папуниди К.Х. с соавт., 2017; Труфанов О. с соавт., 2017; Nagvey, R.V. et al., 1994; Yunxia Y. et al., 2017; Marie-Caroline S. et al., 2016), либо их комбинаций с другими токсикантами (Егоров В.И., 2007; Папуниди К.Х. и др., 2008, 2019; Матвеева Е.В., 2008; Коныхов Г.В. с соавт., 2008; Папуниди Э.К., 2010; Кадиков И.Р., 2010, 2014, 2017; Сайтов В.Р. 2012; Идиятов И.И., 2012) Однако исследователи признают сложность и недостаточность изученности данной проблемы (Тремасов М.Я., 2002; Гулюшин С.Ю., Елизаров И.В., 2012; Крюков В., 2013; Папуниди К.Х. и др.,

2018; Grenier B., Applegate T.J., 2013) и проблему комбинированных воздействий в принципе (Кацнельсон Б.А. и др., 2015, 2016).

Случаи острых микотоксикозов при технологичном сельскохозяйственном производстве – явление редкое в современном животноводстве, однако, малые дозы микотоксинов часто являются причиной низкой продуктивности и повышенной чувствительности животных к инфекционным и другим заболеваниям (Accensi F., 2006; Alassane-Krembi I., 2013). При отсутствии специфических средств профилактики и лечения эти вопросы являются важной проблемой для сельскохозяйственных производителей (Иванов А.В., с соавт., 2008; Антипов В.А. и др., 2016). В последнее годы наиболее эффективными при профилактике микотоксикозов являются упреждающие мероприятия, среди которых перспективными считается использование адсорбентов (Huwig A. et al., 2001; Avantaggiato G. et al., 2005; Jones F.T. et al., 2007), лечебно-профилактический эффект которых основывается на энтеросорбции (Беляков А.А., 1991; Рабинович М.И., 2002; Кузнецов, А.Ф., 1998; Семенов М.П. и др., 2017). При этом существуют разные направления разработки препаратов (Гулюшин С.Ю., 2016). Не теряют актуальности использование в качестве энтеросорбентов природных минералов, которые могут применяться как для повышения продуктивности и коррекции обмена веществ, так и непосредственно при микотоксинозах (Кузнецов А.Ф., 1992; Шадрин, А.М., 1995; Якимов А.В. и др., 2001; Шкуратова И.А., 2002; Ежкова, А.М. и др., 2008; Папуниди Э.К., 2008; Семенов М., Антипов В., 2009; Ковалев В.О., 2009; Ахметов Ф.Г., 2011; Буряк В.Н., 2011; Трёмасова А.М., 2014; Попова О.М., 2016; Муллакаев А.О., 2017; Папуниди К.Х., 2018; Тяпкина Е.В., 2018). В последнее время все большее распространение находят энтеросорбенты органического (растительного, микробного) происхождения из-за совокупности свойств предъявляемых, к профилактическим препаратам: экономичность, физиологичность, безвредность, низкий процент вводимости в рацион, избирательность сорбции и т.д. (Ахмадышин Р.А., 2007; Dawson et al., 2001; Alexandra C. W. et al., 2014)

В связи с вышеизложенным, исследование сочетанного действия микотоксинов, поиск и разработка эффективных и доступных средств для профилактики микотоксикозов животных является актуальной проблемой.

**Степень разработанности темы.** Учитывая расширение масштабов экспорта и импорта зерна между странами, наблюдаемое изменение климата в мире и разработки современных методов анализа приводит к увеличению содержания микотоксинов (Монастырский О.А., 2008) и повышению возможности одновременной контаминации корма различными микотоксинами (Jouany J-P., Diaz D.E., 2006). При этом концентрация каждого токсина в отдельности может быть ниже установленных нормативов, что затрудняет постановку диагноза, повышает тяжесть заболевания и обуславливает высокий экономический ущерб.

Исследования зарубежных авторов и отечественных исследователей показали, что микотоксикозы наиболее часто вызываются не одним, а несколькими микотоксинами (Мирошниченко М.П., 2007). Однако изучение сочетан-

ных отравлений остается актуальным, а исследования по воздействию микотоксинов и инфекционных агентов на свиней единичны. Диагностика подобных сочетанных отравлений требует совершенствования методической базы и учёта особенностей ведения сельскохозяйственного производства. Вследствие этого изучение сочетанного действия микотоксинов на животных позволило бы разработать эффективные средства и методы профилактики и лечения таких отравлений, в том числе с помощью адсорбентов.

**Цель и задачи.** Целью работы явилось изучение сочетанного воздействия фузариотоксинов Т-2 токсина, дезоксиниваленола и зеараленона на животных и оценка эффективности лечебно-профилактических средств.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

- провести микотоксикологический анализ кормов из регионов Поволжья;
- изучить сочетанное воздействие фузариотоксинов Т-2 токсина, дезоксиниваленола и зеараленона на организм лабораторных и сельскохозяйственных животных при интоксикации на уровне существующих ПДК и инфекционной нагрузке;
- оценить эффективность энтеросорбентов различной химической природы в качестве средств профилактики и лечения при сочетанном отравлении животных микотоксинами;
- определить качество мяса при сочетанном воздействии токсикантов и применении адсорбентов;
- разработать рекомендации по диагностике, профилактике и лечению животных при отравлении микотоксинами.

**Научная новизна.** Впервые смоделирована в лабораторных условиях сочетанная интоксикация животных Т-2 токсином, дезоксиниваленолом и зеараленоном на фоне и без инфекционной нагрузки с изучением фармако-токсикологических, гематологических, биохимических, иммунологических показателей организма и проведением ветсанэкспертизы мяса.

Проведен скрининг потенциальных адсорбентов микотоксинов различной природы, изучены их адсорбирующие свойства и предложены схемы лечения и профилактики сочетанных отравлений животных микотоксинами; Разработан адсорбент микотоксинов органического происхождения Фитосорб, изучены его адсорбционные свойства, профилактическая эффективность и безопасность. Установлено, что мясо полученное от животных, подвергнутых воздействию токсинов характеризуется низким качеством по органолептическим, микробиологическим и физико-химическим показателям.

На основе полученных данных разработаны методические рекомендации для диагностики, профилактики и лечения микотоксикозов животных. Новизна исследований подтверждена патентом (Способ профилактики Т-2 токсикоза лактирующих коров – заявка № 2017118826/13 (032546) от 30.05.2017 / Бикташев Р.У., Семёнов Э.И., Трemasов М.Я., Папуниди К.Х., Кадиков Т.Р., Мухутдинов Д.М. // Пат. № 2646895 РФ.).

Материалы диссертации вошли в комплексную работу, удостоенную Государственной премии Республики Татарстан в области науки и техники за 2013 год, а также серебряной (2015) и 2 золотых медалей (2018) ВДНХ.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Изучены отравления сельскохозяйственных и лабораторных животных, вызванных микотоксинами в отдельности, а также в сочетании с микотоксинами и инфекционными агентами. Разработаны методические подходы диагностики и профилактики сочетанных отравлений.

Материалы диссертационной работы вошли в следующие нормативные документы:

- Санитарно-микологическая оценка кормов и улучшение их качества / Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Ахметов Ф.Г., Семёнов Э.И. и др. – М.; ФГНУ «Росинформагротех», 2006. – 32с.;

- Методические рекомендации по профилактике смешанных микотоксикозов животных / Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Ахметов Ф.Г., Семёнов Э.И. и др. – М.; 2009. – 30с. (Утв. РАСХН от 05.06.2009 г.);

- Методические рекомендации по применению энтеросорбентов при отравлениях животных / Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Иванов А.В., Семёнов Э.И. и др. - М.; 2010. – 30с. (Утв. РАСХН от 11.06.2010 г.);

- Методические рекомендации по профилактике микотоксикозов животных / Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Семёнов Э.И. и др. - М.; 2010. – 114 с. (Утв. РАСХН от 21.03.2010 г.);

- Методическое пособие. Диагностика, профилактика и лечение сочетанных отравлений животных вторичными метаболитами микроскопических грибов рода *Fusarium* / Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Семёнов Э.И. и др. – М.; 2012. – 53 с. (Утв. РАСХН от 21.02.2012 г.);

- Методическое пособие. Пути снижения ущерба от микотоксинов / Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Семёнов Э.И. и др. – М.; 2013. – 29 с. (Утв. РАСХН от 08.07.2013 г.);

- Методические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению микотоксикозов животных / Семёнов Э.И., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х. и др.. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017. – 66 с. (Рекомендовано к изданию секцией ветеринарии Научно-технического совета Минсельхоза России, протокол №17 от 19 октября 2016 г.);

- Методические рекомендации по лечению и профилактике комбинированных поражений животных ионизирующим излучением, микотоксинами и химическими агентами / Конюхов Г.В., Папуниди К.Х. и др. – М.; 2018. – 32 с. (Утв. Отделением сельскохозяйственных наук РАН).

Монографии:

- Папуниди, К.Х. Микотоксины (в пищевой цепочке): монография / К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, В.И. Фисинин, А.И. Никитин, Э.И. Семёнов. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2017. – 158 с. Издание 2-е, доп.;

- Папуниди, К.Х. Кормовые отравления и токсикоинфекции животных: монография / К.Х. Папуниди, А.И. Никитин, Э.И. Семёнов и др. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2018. – 212 с.;

- Папуниди, К.Х. Применение сорбентов для профилактики нарушения обмена веществ и токсикозов животных: монография / К. Х. Папуниди, Э.И. Семёнов, И.Р. Кадилов, Р.У и др. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2018. – 207 с.;

- Папуниди, К.Х. Комбинированные поражения животных и разработка средств профилактики и лечения: монография / К.Х. Папуниди, Г.В. Конюхов, Р.Н. Низамов, Э.И. Семёнов, И.Р. Кадилов. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2019. – 248 с.

**Методология и методы исследований.** Для достижения основной цели диссертационной работы и обоснования применения полученных результатов использованы адекватные методологические приемы и доступные методы исследования. Методологические подходы основаны на обосновании актуальности, целях и задачах исследований, анализа данных отечественных и зарубежных публикаций и результатов собственных исследований.

Использованы микологические, микотоксикологические, фармако-токсикологические, клинические, гематологические, биохимические, иммунобиологические, хроматографические, иммуноферментные и патоморфологические методы исследований. При проведении экспериментальных работ использовали нелинейных белых мышей, нелинейных и линейных (Вистар) крыс, кроликов породы Шиншилла, овец породы Прекос, поросят породы Крупная белая.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- сочетанное воздействие фузариотоксинов на организм лабораторных и сельскохозяйственных животных без и на фоне инфекционной нагрузки;

- клинические признаки, гематологические, биохимические, иммунобиологические показатели крови, патоморфологические и цитологические изменения у животных при сочетанном воздействии микотоксинов;

- обоснование применения адсорбентов различной природы, в том числе органической, для снижения отрицательного сочетанного воздействия микотоксинов на животных;

- эффективность использования адсорбентов для профилактики и лечения микотоксикозов *in vitro* и *in vivo*;

- фармако-токсикологическая оценка органического адсорбента микотоксинов;

- эффективность использования иммуномодуляторов и гепатопротекторов при микотоксикозах животных.

**Степень достоверности и апробация диссертации.** Достоверность результатов исследования, основных положений и научных выводов диссертации подтверждена большим объемом проведенных экспериментов на лабораторных и сельскохозяйственных животных, а также широким спектром методических приемов. Объективность научных положений и выводов подтверждается статистической обработкой полученных данных математическими методами.

Тема диссертации, направления исследований и их результаты рассмотрены, обсуждены и одобрены на заседаниях Учёного совета ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», включены в годовые отчеты по НИР (2006-2018 гг.), доложены на международных и всероссийских научно-практических конференциях и конгрессах (Москва, 2011-2018 гг., Санкт-Петербург, 2011-2015 гг.; Казань, 2009-2019 гг. и др.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 82 научные работы, в том числе 37 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 10 публикаций в изданиях, цитируемых Scopus и WoS, 1 патент, 8 методических пособий и рекомендаций, 4 монографии.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 342 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка сокращённых терминов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 78 таблицами и 58 рисунками. Список литературы включает 445 литературных источников, в том числе 198 - зарубежных авторов.

## **2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **2.1 Материалы и методы исследований**

Работа выполнена в лаборатории микотоксинов отдела токсикологии ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» в период с 2006 по 2019 гг.

В опытах было использовано 945 белых мышей, 652 белых крыс, 157 кроликов, 30 овец, 72 поросенка. Производственные испытания проведены на 770 поросятах. Исследовано 3786 образцов кормов. Общая схема исследований представлена выполненными работами представлена на рисунке 1.

Условия проведения опытов, схемы, вид и количество используемых при этом животных, дозировки, кратность применения микотоксинов и препаратов приведены в соответствующих разделах работы.

Для оценки образцов кормов и патматериала на загрязненность микотоксинами использовались методики, утвержденные или допущенные к применению Госстандартом России, Минздравом и Минсельхозом России, с использованием современных приборов и оборудования: высокоэффективная жидкостная и тонкослойная хроматография (ГОСТ 30711-2001, Р 5116-97,



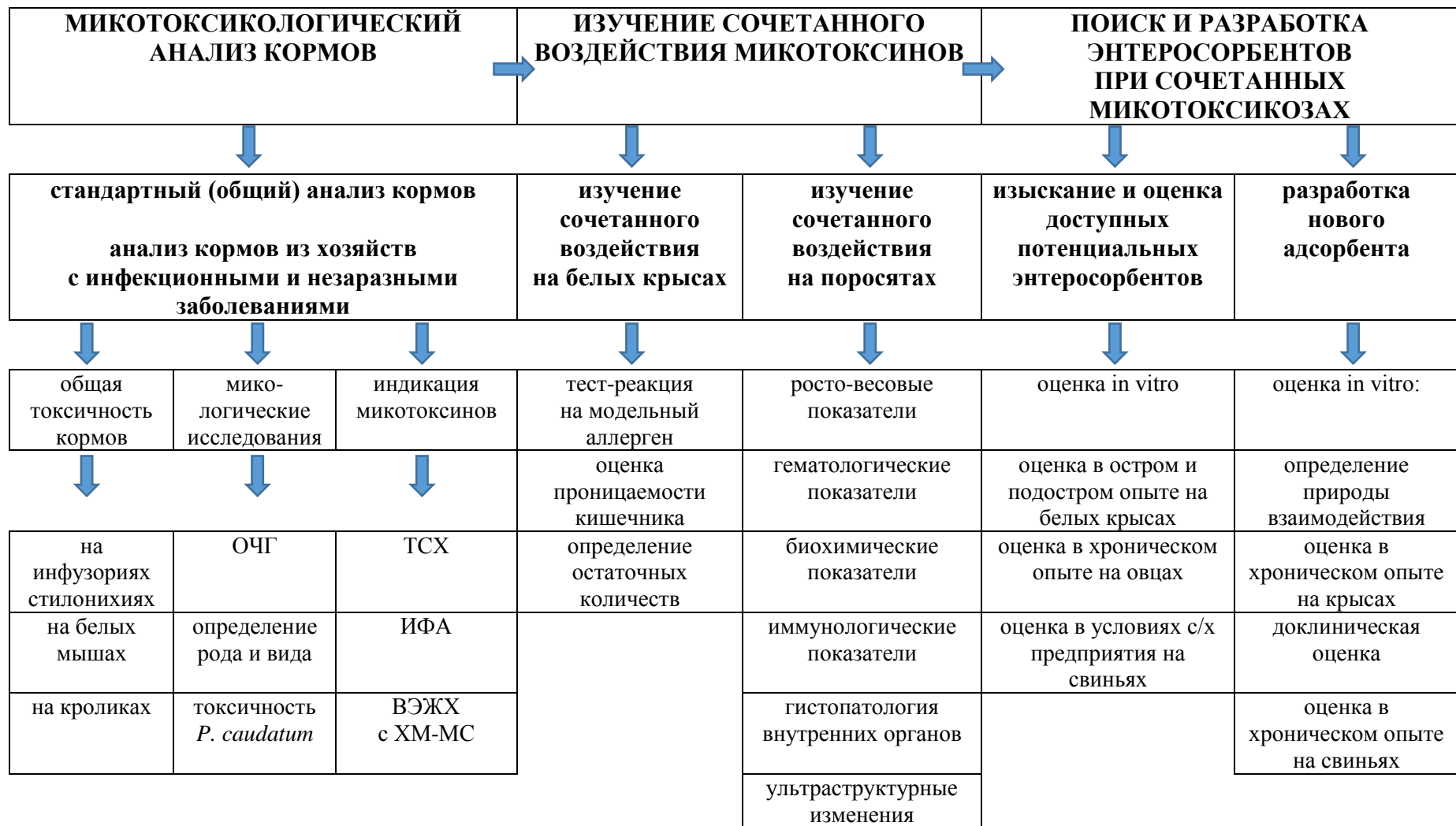


Рисунок 1- Общая схема исследований

28038-89, МУ 5177-90, МУ 3184-84, МУ 3245-85, МУ 4082-86), хромато-масс-спектрометрия (ГОСТ 34140-2017), иммуноферментный анализ (ГОСТ 31653-2012, тест-системы производства R-Biofarm, Германия), биоавтографический метод (утв. Главным управлением ветеринарии МСХ СССР-25.05.87 г).

Для работы, в качестве стандартных образцов использовали микотоксины в сухой кристаллической форме (Т-2 токсин, зеараленон, дезоксиниваленол, фумонизин В<sub>1</sub>, НТ-2 токсин, афлатоксины В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> и др., всего 19 наименований) производства Fermentek Ltd. (Израиль), либо в виде растворов (ГСО, СО, СОП).

При моделировании микотоксикозов для затравки животных использовали кристаллические Т-2 токсин, дезоксиниваленол (ДОН), зеараленон, афлатоксин В<sub>1</sub> полученные в лаборатории микотоксинов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», с чистотой микотоксинов соответственно 99,8, 96,7, 98,3 и 91,4%. В качестве продуцента Т-2 токсина и зеараленона использовали гриб *Fusarium sporotrichioides* штамм 2М15, любезно предоставленный д.б.н. А.Н.Котиком. В качестве продуцента дезоксиниваленола использовали *Fusarium graminearum* изолят W32, а афлатоксина В<sub>1</sub> - *Aspergillus flavus* изолят 2075 из коллекции микромицетов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Определение общей токсичности кормов проводили согласно ГОСТ 52337-2005. Микологические исследования проводили в соответствии с нормативными документами и включали: определение общего числа грибов (ОЧГ) и родовую идентификацию грибов, определение токсичности и токсигенности выделенных изолятов (МУ утв. ГУВ МСХ СССР от 25.02.85 г.; ГОСТ 18057-88; МУ утв. Депатаментом ветеринарии МСХ РФ от 14.07.2003 г. и от 27.10.2006 г.; МР Утв. РАСХН от 21.03.2010; Гагкаева Т.Ю. и др., 2011, 2017). Родовую и видовую идентификацию грибов проводили с помощью специальных определителей и атласов (Литвинов М.А., 1967; Кириленко Т.С., 1977; Кулько А.Б., 2012). Определение токсичности культур грибов - ускоренным методом с использованием простейших (*Paramecium caudatum*), а также методом кожной пробы на кролике (Курасова и др., 1971). Определение адсорбционной способности сорбентов *in vitro* при рН=7 (при температуре 37<sup>0</sup> С, в течение 30 минут) проводили по методике, описанной Крюковым В.С. и соавт. (1992), с изменениями, учитывающими специфику индикации Т-2 токсина и модифицированная нами (Тремасов М.Я., Семёнов Э.И., Мишина Н.Н., 2008). Адсорбирующую способность оценивали по двухфазной методике: сначала энтеросорбент помещают в среду при рН=2, температуре 37<sup>0</sup>С на 30 минут, где связывает (адсорбирует) микотоксин, затем образованный комплекс «сорбент+микотоксин» помещают в среду при рН=8, 37<sup>0</sup>С на 60 минут, где происходит высвобождение (десорбция) микотоксина.

В качестве потенциальных средств профилактики микотоксикозов применялись сорбенты: бентонит Биклянского месторождения нативный и прокаленный при 1000<sup>0</sup>С, бентонит Тарн-Варского месторождения Республики Татарстан, предоставленные д.б.н. Ежковой А.М. (ТатНИИ

агрохимии и почвоведения); энтеросорбент углеродный «Зоокарб», разработанный под руководством д.т.н. профессора Сурувикина В.Ф. в научно-техническом учреждении «Конструкторско - технологический институт технического углерода» СО РАН и предоставленный для экспериментов профессором Геруновой Л.К.; адсорбенты растительного и дрожжевого происхождения, разработанные совместно профессором Канарским А.В. (ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет») под шифрами «П-1» (на основе ростков от отходов сортирования ячменного солода); «П-2» (на основе корневой части от отходов сортирования ячменного солода); «П-3» (на основе зерновой оболочки от отходов сортирования ячменного солода); «П-4» (на основе зерновой оболочки от мучнистых отходов ячменя), «П-5» (на основе пивной дробины); коммерческие адсорбенты токсинов: «Микосорб» (Alltech, США); «Микофикс Плюс», «Микофикс Селект», (Biomin GmbH, Австрия); «Молд Карб» («Кемин», Бельгия), «Экосил», активный уголь марки БАУ-А (ООО НТЦ «Химинвест», Н.Новгород); препараты с гепатопротективным действием: «Гептрал», «Эссенциале форте Н», «Эссливер форте», солянка холмовая и препараты Расторопши пятнистой; препараты с иммуномодулирующим действием: «Левамизол», «Ксимедон», «Димефосфон» и «Тималин».

Работы по адсорбции витаминов адсорбентами проводили совместно с Ахмадышиным Р.М. по аналогичной схеме, что и адсорбцию микотоксинов. Количественный анализ витаминов проводили с применением высокоэффективного жидкостного хроматографа Perkin Elmer series 200. В качестве стандартов витаминов использовали коммерческие медицинские витамины, приобретенные в аптечной сети.

Исследование технических характеристик разрабатываемых адсорбентов проводили совместно с проф. Канарским А.В.: определение удельной поверхности адсорбентов - газохроматографическим методом – по тепловой десорбции азота с применением методики расчета Брунауэра-Эмметта-Теллера (БЭТ); определение удельной поверхности, общего объема пор, количества активных центров адсорбентов методом ЯМР. Определение функциональных групп адсорбентов проводили с применением ИК-спектроскопии на приборе «Spectrum-75 IR».

Для определения природы взаимодействия адсорбент-токсин проводили исследование на примере химически чистых лигнинов, выделенных из различных видов однолетних и многолетних растений, либо синтезированных. Данные образцы получены из различных институтов (Казанский национальный исследовательский технологический университет, Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Институт геологии Коми НЦ УрО РАН) и предоставлены проф. Канарским А.В. Определение функциональных групп (гидроксильных фенольных  $\text{OH}_{\text{ph}}$  и карбоксильных  $\text{COOH}$ -групп) проводили по стандартным методикам, принятым в химии лигнина.

Элементный анализ образцов проводили с помощью анализатора фирмы Hewlett Packard (США).

При работах на лабораторных и сельскохозяйственных животных микотоксины вводили включением в рацион животным путем последовательного и ступенчатого тщательного перемешивания, либо в виде водно-спиртовых растворов внутривентриально при помощи атравматичного зонда. Рационы были предварительно исследованы на соответствие санитарным требованиям.

Животных в ходе опыта иммунизировали вакциной против эшерихиоза животных, изготовленной в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», любезно предоставленной зав. лаб. болезней молодняка, д.б.н. Спиридоновым Г.Н. Вакцину вводили на 15 сут опыта внутримышечно в область задней поверхности бедра в дозе 1 мл у поросят и 0,5 мл на крысу. Титры антител определяли в реакции агглютинации (РА). За титр антител принимали последнее разведение, в котором наблюдалась четкая агглютинация. Постановка реакции агглютинации сопровождалась контролем сыворотки и антигена. Учет пробирочной реакции агглютинации производили предварительно через 2 ч инкубации пробирок при температуре 37°C и окончательно через 18-20 ч по двум признакам: наличию и величине осадка и степени прозрачности надосадочной жидкости.

Инфекционную нагрузку проводили с помощью патогенной культурой *Clostridium perfringens* №392 тип С из коллекции штаммов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Заражение проводили орально у всех групп животных. Каждому поросенку вливали внутрь суспензию в объеме 2 мл, содержащую  $1 \times 10^6$  микробных клеток *Cl. perfringens*.

В ходе экспериментов изучали клиническое состояние животных, потребление корма, гематологические и биохимические показатели, изменение массы тела, регистрировали продолжительность жизни, патологоанатомическую картину. У животных взятие крови осуществляли путем декапитации – белые крысы, из хвостовой вены – поросята, у кроликов из краевой ушной вены и у овец из яремной вены

Гематологические исследования, включающие определение количества эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, моноцитов, лимфоцитов, гематокрита, тромбоцитов проводили с использованием гематологического анализатора «Mythic 18», либо общепринятыми методами (Кондрахин И.П., 2004).

Содержание билирубина, глюкозы, холестерина, активности ферментов аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы в сыворотки крови животных проводили с помощью биохимического анализатора «Microlab 300». Содержание общего белка определяли рефрактометрическим, а белковых фракций нефелометрическим методом (Кондрахин И.П., 2004).

Лизоцимную активность сыворотки крови определяли по Маркову Ю.М. (1979) в модификации отдела зоогигиены Украинского научно –

исследовательского института экспериментальной ветеринарии. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов проводили по Гостеву В.С. с соавт. (1979). Содержание Т- и В-лимфоцитов в периферической крови определяли с методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами козла (Кондрахин И.П., 1985).

О степени интенсивности процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по накоплению вторичных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (Кондрахин И.П., 2004).

Исследования мяса были проведены через 24 ч после убоя животных. Мясо хранили в холодильнике при 0-4 °С. Органолептические показатели устанавливали в соответствии с ГОСТ 7269-79. Химические и микроскопические анализы мяса проводили на основании ГОСТ 23392-78 – показатели рН, реакция на пероксидазу, реакция с сернокислой медью, аммино-аммиачный азот, формольная проба и микроскопия мазков.

Определение параметров острой, хронической токсичности, эмбриотоксического и тератогенного действия сорбента Фитосорб проводили на белых крысах согласно принципам токсикологической оценки новых лекарственных средств (Дорожкин В.И., Уразаев Д.Н., 2006) и «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005, 2012). Изучение состояния внутренних органов и скелета эмбрионов выполняли по методу Wilson (1965) и Dawson (1926), кумулятивные свойства определяли по методу Lim R. et al. (1961).

Изучение местно-раздражающего действия сорбента на кожу и слизистую оболочку глаза проводили согласно «Методическим указаниям к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих веществ в воздухе рабочей зоны» (1980).

Аллергизирующие свойства определяли в соответствии с МУ 1.1.578-96 «Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы», утвержденных Минздравом России (1997).

Расчет эффективности скармливания животным энтеросорбентов проводили по стандартной методике экономических вычислений (Никитин И.Н. и др.).

Гистологические и электронномикроскопические исследования проводили совместно с д.б.н. Сайтовым В.Р. и к.м.н. Губеевой Е.Г. Для гистологических исследований от животных брали кусочки органов, фиксировали в буферном растворе 10%-го формалина, рН-8,0. Заливку в парафин осуществляли по схеме Волковой–Елецкова (1996). Окраску гистопрепаратов проводили гематоксилин–эозином. Гистосрезы просматривали на микроскопе Leica.

С помощью методов электронной микроскопии исследовали ультраструктуру клеток паренхимы печени, коркового слоя почек. Подготовка отобранного материала проводилась по принятой классической схеме. Образцы фиксировали в 1%-ном растворе глутарового альдегида на 0.1М фосфатном буфере (РН 7,4). Постфиксацию проводили в 2%-ном растворе четырехоксида осмия на том же буфере 2 часа. После дегидратации в спиртах и ацетоне кусочки ткани заключали в смесь эпоновых смол. Ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе JEM – 100СХ. Материал для гистологических исследований фиксировали в буферном растворе 10%-го формалина. После обезвоживания, уплотнения взятого материала и приготовления блоков делали гистологические срезы толщиной 8 мкм. Окрашенные гематоксилин-эозином гистологические препараты изучали в светооптическом микроскопе (OLIMPUS CX31), оценивая изменения структуры органов и тканей, накладывая окуляр-насадку (МОВ-1-15<sup>х</sup>) и окуляр сетку.

Полученные экспериментальные данные подвергали математической обработке общепринятым методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту с использованием программ Excel.

## 2.2 Результаты собственных исследований

### 2.2.1 Микотоксикологический анализ кормов

Общая токсичность кормов значительно варьировала от вида хозяйств, в среднем токсичными были 25,8% исследованных образцов. Токсичными и слаботоксичными свойствами обладали 40,6% образцов комбикормов, наименее токсичными были зерновые - 11,5% образцов.

Регламентированные микотоксины были обнаружены в 44% образцов кормов поступивших из регионов Поволжья. В 27% образцах обнаружен один микотоксин, в 12% образцах - два микотоксина и в 5% образцах - три микотоксина и более. Обнаруживались в основном: Т-2 токсин (35,6 до 131,8 мкг/кг), зеараленон (64,7 до 1854,4 мкг/кг), афлатоксины (0,5 - 135,6 мкг/кг), и дезоксиниваленол (220,0 до 2450,0 мкг/кг), наибольшее количество токсинов выявлялось в комбикормах.

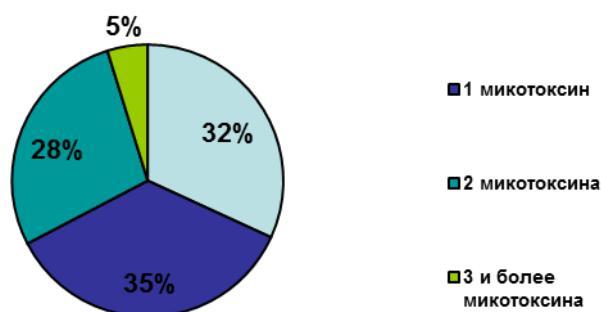


Рисунок 2 - Содержание микотоксинов в кормах с/х предприятий проблемных по заболеваниям животных

В разрезе с.-х. предприятий, в которых регистрировали инфекционные и незаразные заболевания животных (рис. 2), регламентированные микотоксины были обнаружены в 68% образцах, в 35% образцах обнаружен один микотоксин, в 28% образцах - два микотоксина. (чаще обнаруживались ассо-

циации следующих микотоксинов Т-2 токсин+зеараленон, зеараленон+ДОН, зеараленон+афлатоксин В<sub>1</sub> и ДОН+афлатоксин В<sub>1</sub>) и в 5% образцах - 3 микотоксина и более (Т-2 токсин+зеараленон+ДОН и зеараленон+ДОН+афлатоксин В<sub>1</sub> и Т-2 токсин+зеараленон+ДОН+афлатоксин В<sub>1</sub>). Превышение предельно-допустимых концентраций (ПДК) микотоксинов было в 19% образцов. Микологические исследования выявили заспоренность кормов, в основном, представителями родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Stachybotrys*, *Cladosporium*. Наибольшим токсигенным потенциалом обладали изоляты родов *Aspergillus* (37%), *Fusarium* (21%), *Penicillium* (17%).

### 2.2.2 Оценка потенциальных энтеросорбентов *in vitro* и *in vivo*

Сравнительное изучение сорбционных свойств ряда потенциальных энтеросорбентов и афлатоксину В<sub>1</sub> показало, что при температуре 18 °С и рН 7 адсорбционные свойства сорбенты к Т-2 токсину проявили в следующей последовательности: бентониты Тарн-Варского и Биклянского месторождений (61,6 и 51,0%), «Молд Карб» (59,6%), «Микосорб» (57,2%), «Микофикс Плюс» (52,5%), «Зоокарб» (42,1%), сорбент ФСК (43%), меньше адсорбировали «Микофикс Селект» бентонит Биклянский обожженный, сорбент ДСК и «Экосил». При увеличении температуры до 37 °С, бентонит, зоокарб, сорбент ФСК и экосил увеличивали адсорбцию токсина (рис. 3).

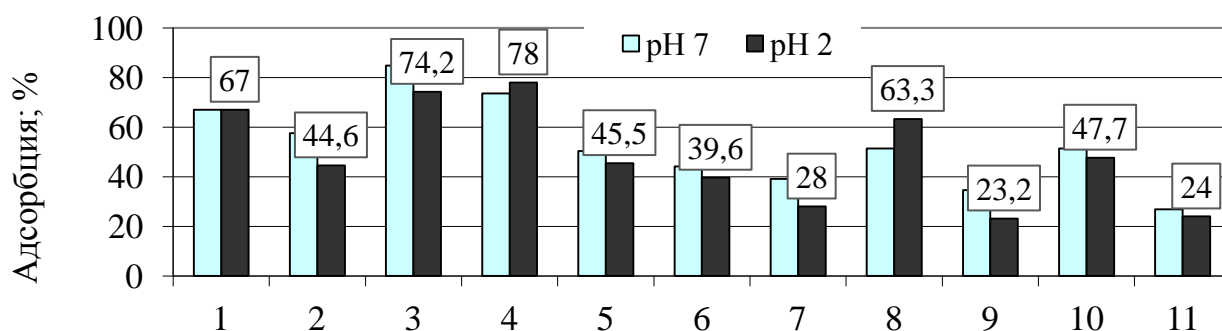


Рисунок 3 - Адсорбционная способность сорбентов в отношении Т-2 токсина при температуре 37 °С

Где: 1 - Бентонит Биклянский сырой, не обработанный; 2 - Бентонит Биклянского месторождения прокалённый при 1000 °С; 3 - Бентонит Тарн-Варского месторождения; 4 - «Зоокарб»; 5 - «Микосорб»; 6 - «Микофикс Плюс»; 7 - «Микофикс Селект»; 8 - «Молд Карб»; 9 - «Экосил»; 10 - Сорбент ФСК; 11 - Сорбент ДСК.

Все перечисленные сорбенты обладали высокой сорбционной активностью к афлатоксину В<sub>1</sub>, но лучше сорбировали афлатоксин при рН 7 и температуре 37 °С бентонит Тарн-Варский (94,7%), Зоокарб (89,6%), бентонит Биклянский (83,7%), Микосорб (82,6%), сорбент ФСК (79,6%).

По той же схеме провели оценку адсорбционных свойств угольных энтеросорбентов в отношении афлатоксина В<sub>1</sub> *in vitro*. Активный уголь на

древесной основе БАУ-А адсорбировал 96,0 % афлатоксина В<sub>1</sub>, фитоуголь – 67,5 и 57,4% соответственно.

Результаты исследований сорбционных свойств энтеросорбентов в острых (ЛД<sub>50</sub>) и подострых (1/5-1/10 ЛД<sub>50</sub>) опытах на белых крысах показали возможность применения БАУ-А и зоокарба при острых микотоксикозах, зоокарба (0,2 - 0,5% от массы корма) и бентонита Тарн-Варского месторождения (1 - 2% от массы корма) - при подострых и хронических микотоксикозах, а также перспективность разработки органических адсорбентов (ФСК).

Следующим этапом было изучение эффективности применения бентонита и зоокарба для профилактики сочетанных микотоксикозов на сельскохозяйственных животных. Было сформировано 5 групп животных по 3 овцы в каждой: первая группа получала с кормом Т-2 токсин (1/20 ЛД<sub>50</sub>); вторая группа - Т-2 токсин (1/20 ЛД<sub>50</sub>) и афлатоксин В<sub>1</sub> (1/50 ЛД<sub>50</sub>); третья группа - Т-2 токсин (1/20 ЛД<sub>50</sub>), афлатоксин В<sub>1</sub> (1/50 ЛД<sub>50</sub>) и бентонит Тарн-Варского месторождения 2% от рациона; четвертая группа получала Т-2 токсин (1/20 ЛД<sub>50</sub>), афлатоксин В<sub>1</sub> (1/50 ЛД<sub>50</sub>) и коммерческий сорбент микосорб 0,5% от рациона; пятая группа получала Т-2 токсин (1/20 ЛД<sub>50</sub>), афлатоксин В<sub>1</sub> (1/50 ЛД<sub>50</sub>) и зоокарб 0,2% от рациона.

Клиническая картина интоксикации, была более выраженная во второй половине опыта: животные были угнетены, поедаемость корма была снижена, в уголках рта и на слизистой оболочке ротовой полости наблюдались изъязвления, трещины, шелушение кожи.

У овец первой и второй групп регистрировали закономерное снижение гематологических параметров. Так, в первой группе на 20 и 30 сут отмечали уменьшение количества эритроцитов на 8,4 и 10,8%, во второй группе - на 11,0 и 13,0% соответственно. Уменьшение количества лейкоцитов в те же сроки в первой группе было на 22,5 и 19,7 и во второй группе – на 27 и 27,6% соответственно. Содержание гемоглобина в первой группе на 20 и 30 сут снижалось на 9,5 и 12,8%, во второй группе - на 12,4 и 14,9% соответственно.

У животных профилактируемых групп наблюдали менее выраженное уменьшение исследуемых показателей. В третьей группе количество эритроцитов к 30 сут опыта снижалось на 4,6%, лейкоцитов - на 5%, содержание гемоглобина - на 4,8%. В четвертой группе - на 3,5%, 9,4%, и 7,3%. В пятой группе - 2,0%, лейкоцитов - на 5% соответственно.

Содержание общего белка и глюкозы в сыворотке крови также претерпевало изменения. В первой и второй группах у животных происходило уменьшение содержания общего белка - к 30 сут эксперимента на 14,2 и 16,8% соответственно. Уменьшение общего белка на 30 сут опыта в третьей группе составляло 7,0%, в четвертой группе – 5,2% и в пятой группе – 5,7%.

Происходило снижение концентрации глюкозы в сыворотке крови овец, которое на 30 сут опыта в первой группе составило на 15,2%; во второй группе – на 18,3%; третьей группе - на 8,0%; в четвертой группе – на 9,3% и в пятой группе – на 10,4%. Регистрировали активацию ПОЛ - в первой группе к 30 сут происходило увеличение МДА на 9,0%, во второй группе - на 13%, в



третьей группе - на 7,0%, в четвёртой группе – на 7,0%, в пятой группе - на 3,0%. Полученные данные свидетельствуют об усилении токсического действия микотоксинов при их совместном поступлении и о выраженном защитном действии сорбентов при отравлении микотоксинами.

Далее провели изучение профилактической эффективности бентонита и зоокарба в производственных условиях. Производственные опыты были проведены в СХКП им Вахитова Кукморского района Республики Татарстан. В кормах обнаруживались микотоксины Т-2 от 0,05 до 1,35 мг/кг, НТ-2 токсин до 0,2 мг/кг, афлатоксин В<sub>1</sub> от 0,005 до 0,28 мг/кг, афлатоксин G<sub>1</sub> до 0,14 мг/кг. Было сформировано 4 группы из поросят 2-3 - месячного возраста: 1 группа, контрольная, (106 голов), получали основной, нетоксичный рацион; 2 группа (92 головы) - получала токсичный рацион и дополнительно бентонит в количестве 2% от рациона; 3 группа (88 голов) - получала токсичный рацион и дополнительно зоокарб в количестве 0,5% от рациона; 4 группа (54 головы) опытная, получала токсичный рацион.

Установлено, что применение сорбентов не снижало поедаемости кормов, оказывало положительное влияние на гематологические и весовые показатели поросят по сравнению с поросятами, получавшими токсичный корм (табл. 1).

Таблица 1 – Гематологические показатели поросят на фоне применения сорбентов

Группа	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобин, г/л	Общий белок, г/л
1	14,7±1,2	6,4±0,4	94,0±3,0	68,0±0,4
2	15,2±1,08	6,2±0,6	92,5±4,0	64,3±0,5
3	14,3±1,14	6,3±0,3	94,0±3,0	66,5±0,4
4	12,8±1,35	5,9±0,8	90,0±6,0	60,1±1,0

Аналогичные производственные испытания бентонита также были проведены на базе СТФ ЗАО «Шойбулакский» Медведевского района Республики Марий Эл, установлено, что применение сорбентов оказывало положительное влияние на гематологические и весовые показатели поросят поедавшие бентонит в количестве 2% от рациона по сравнению с поросятами, получавшими токсичный корм без добавления сорбента.

## 2.2.3 Разработка нового органического адсорбента

### 2.2.3.1 Оценка сорбционных свойств лигнин- и полисахаридсодержащих энтеросорбентов в отношении микотоксинов *in vitro*

Провели сравнительную оценку адсорбционной способности к микотоксинам образцов лигнин- и полисахаридсодержащих энтеросорбентов в нейтральной (рН 7), кислой (рН 2) и слабощелочной среде (рН 8) при температуре 37<sup>0</sup>С (рис 4).

Наибольшую адсорбционную способность в отношении Т-2 токсина энтеросорбенты показали в следующей последовательности: «П-4» – 50,1; «П-3» – 47,4; «Микосорб» – 46,8; «П-2» – 45,3; «П-1» – 44,7 и «П-5» – 38,6%.

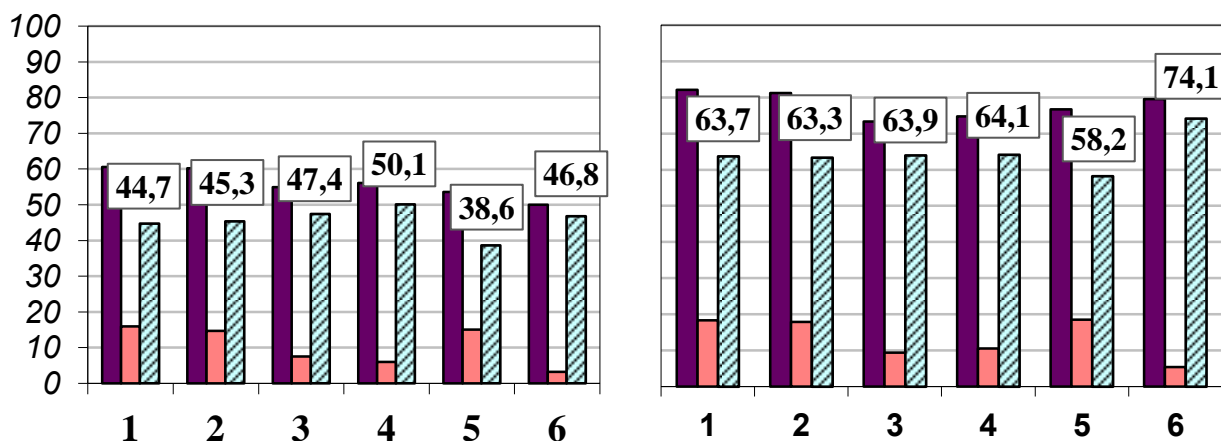


Рисунок 4- Адсорбционная способность полисахаридсодержащих энтеросорбентов в отношении Т-2 токсина (4А, слева) и афлатоксина В1 (4Б, справа) в кислой и слабощелочной среде: 1 - «П-1»; 2 - «П-2»; 3 - «П-3»; 4 - «П-4»; 5 - «П-5»; 6 - «Микосорб».

Подсчет процента истинной сорбции показал, что наибольшую адсорбционную способность в отношении афлатоксина В<sub>1</sub> энтеросорбенты показали в следующей последовательности: «Микосорб» - 74,1; «П-4» - 64,1; «П-3» - 63,9; «П-2» - 63,3; «П-1» - 63,7 и «П-5» - 58,2%. В отношении зеараленона адсорбционная способность была в следующей последовательности «П-5» - 84,0; «П-4» - 82,9; «П-3» - 79,6; «П-2» - 76,7 и «П-1» - 74,3%.

Результаты адсорбции Фитосорбом витаминов в сравнении с активированным углем показали, что он обладает эффективной адсорбцией микотоксинов и не обладает, в отличие от активированного угля, выраженной адсорбирующей способностью к витаминам, микроэлементам и тяжелым металлам. По результатам опытов для дальнейших исследований был отобран образец лигнин-полисахаридного адсорбента «П-3» (Фитосорб).

### 2.2.3.2 Изучение взаимосвязи структурно-химических характеристик лигнинов и их сорбционной способности в отношении микотоксинов

Изучение взаимосвязи структурно-химических характеристик лигнинов и их сорбционной способности в отношении микотоксинов проводилось с использованием химически чистых лигнинов полученных из различных таксономических групп растений на примере Т-2 токсина. Полученные результаты свидетельствуют о тесной корреляции между количеством СООН-групп, фенольных гидроксидов ОН<sub>ph</sub> и адсорбционной способностью исследуемых образцов в отношении микотоксина Т-2. В молекуле микотоксина Т-2 присутствуют активные кислородсодержащие группы типа спиртовых и сложноэфирных группировок, а также двойные связи. По-видимому, при взаимодействии адсорбата и лигнинов происходит образование прочных валентных сложноэфирных и простых эфирных связей.

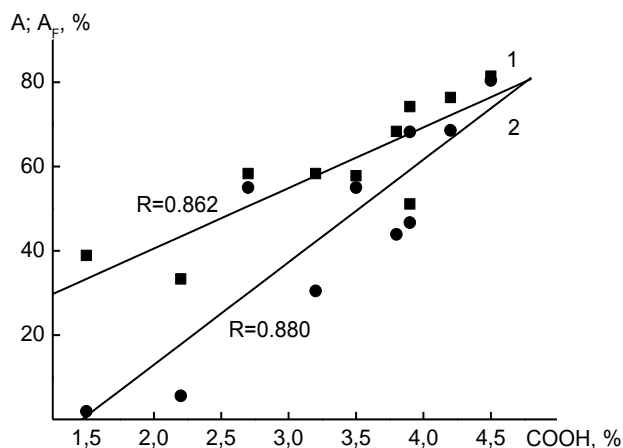


Рисунок 5 – Зависимость адсорбции А (1) и истинной адсорбции А<sub>F</sub> (2) от количества СООН-групп в препаратах лигнинов

параметрами поверхностно-пористой структуры и химического строения различных лигнинов приводит к заключению, что для осуществления прочной адсорбции микотоксина Т-2 важную роль играют механизмы хемосорбции и образования химических связей, тогда как вклад физических явлений не является существенным.

Установлена взаимосвязь между показателем десорбции и количеством кислых функциональных групп - чем выше содержание фенольных и карбоксильных групп, тем ниже показатель десорбции. Ни удельная площадь поверхности, ни показатели пористой структуры лигнинов не оказывали положительного влияния на показатели адсорбции микотоксина Т-2.

Установление корреляционных соотношений между адсорбционной способностью и

### 2.2.3.3 Изучение эффективности применения полисахаридсодержащего энтеросорбента Фитосорб для профилактики микотоксикозов на белых крысах

Исследование проводилось на 72 самцах белых крыс, разделенных по принципу аналогов на 4 группы. Первая группа животных служила биологическим контролем и в течение 30 сут получала «чистый» комбикорм, крысам 2 группы задавали корм, контаминированный сочетанно Т-2 и афлатоксином В<sub>1</sub> (в дозах 0,3 мг/кг корма); третья группа получала токсичный корм и энтеросорбент Фитосорб в количестве 0,5% от рациона; четвертая группа получала токсичный корм и энтеросорбент Фитосорб в количестве 1% от рациона.

У всех крыс, получавших токсин без сорбента, наблюдались выраженные клинические признаки токсикоза уже на 10 сут эксперимента в виде снижения аппетита, угнетения, анорексии и диареи; менее выраженная клиническая картина была у 60% животных 3 группы, и у 36% животных - 4 группы. Средняя живая масса белых крыс, получавших токсичный корм к 30 сут опыта была на 21,5% ( $p < 0,001$ ) ниже по сравнению с контрольной группой. Включение в токсичный корм энтеросорбента Фитосорб способствовало уменьшению негативного действия микотоксинов на прирост живой массы крыс: в третьей и четвертой группах снижение массы тела к 30 сут составило 15,0 ( $p < 0,001$ ) и 6% ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с контрольной группой.

К 30 сут эксперимента количество эритроцитов у крыс 2-й группы, получавших токсичный корм, снизилось на 26,5% ( $p < 0,01$ ), лейкоцитов - на

27,5%, содержание гемоглобина - на 22,1% ( $p < 0,01$ ), СОЭ повысилась на 146,1% ( $p < 0,05$ ). В третьей группе животных, количество эритроцитов снижалось на 11,5% ( $p < 0,01$ ), лейкоцитов – на 19,2% ( $p < 0,05$ ), СОЭ увеличилась - на 26,1%. В четвертой группе животных количество эритроцитов снижалось на 9,4% ( $p < 0,05$ ), снижение количества лейкоцитов – на 14,8% ( $p < 0,05$ ), СОЭ увеличилась - на 13,04%.

У белых крыс, получавших токсичный корм происходит снижение уровня глюкозы в сыворотке крови к 30 сут эксперимента – на 25%. В третьей и четвертой группах у животных на 30 сут регистрировали снижение показателя на 9,5 и 8,3% соответственно.

Содержание общего белка в сыворотке крови у крыс второй группы, по сравнению с контрольными, снизилось к 30 сут на 26,3% ( $p < 0,05$ ), в группе крыс, профилактируемых введением в рацион 0,5% Фитосорба, снижение общего белка составило 11,4% ( $p < 0,01$ ), в четвертой группе - на 7,2%.

Было выявлено повышение активности щелочной фосфатазы в крови животных второй группы к 30 сут – на 50,2% ( $p < 0,01$ ), в третьей и четвертой группе 35% ( $p < 0,01$ ) и 19,2% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Во второй группе животных активность АЛТ и АСТ в крови к 30 сут увеличивалась на 73,3% и 70% ( $p < 0,001$ ), третьей группе – на 57,1% и 50% ( $p < 0,001$ ), в четвертой – на 31,3% и 33,6% ( $p < 0,001$ ) соответственно.

Активность АСТ на 10 сут исследований была выше на 15,8 ( $p < 0,05$ ), на 20 сут – на 33,6 ( $p < 0,01$ ), на 30 сут – на ( $p < 0,001$ ). У крыс третьей группы на 10, 20 и 30 сут регистрировали увеличение активности АСТ на 7,1; 23,1 ( $p < 0,01$ ) и ( $p < 0,001$ ) соответственно. Активность АСТ в сыворотке крови белых крыс четвертой группы повышалась на 10, 20 и 30 сут на 3,1; 14,1 и ( $p < 0,001$ ), соответственно. Происходило снижение фагоцитарной активности у крыс всех групп, по сравнению с аналогичным показателем группы контроля, к 30 сут эксперимента – на 16,4 ( $p < 0,05$ ), 10,1 и 7,8% соответственно.

При гистологическом исследовании у животных, получавших сочетано Т-2 и афлатоксин В<sub>1</sub> в течение 30 сут наблюдались выраженные изменения во внутренних органах. В почках на фоне паретического венозного полнокровия имели место периваскулярные кровоизлияния. В семенниках определялись признаки нарушения сперматогенеза, сперматогенный эпителий был дистрофически изменен, плотность сперматогенного эпителия уменьшена, наблюдалась частичная его десквамация, в просвете канальцев содержались редкие спермии и детрит. В кишечнике секреторные клетки были дистрофичные, апикальные части ворсин слущены.

Введение в рацион энтеросорбента Фитосорб способствовало нормализации гистоструктуры внутренних органов. Так, у крыс получавших с кормом Т-2 токсин и афлатоксин В<sub>1</sub> сочетано в дозах 0,3 мг/кг корма и энтеросорбент Фитосорб в количестве 0,5% от рациона, имели место периваскулярные кровоизлияния в почках, но в кишечнике признаки десквамации ворсин эпителия носили механический характер, вероятно от действия самого сор-

бента, чем дистрофический, гистроструктура остальных органов соответствовала норме.

Таким образом, установлено, что при сочетанном хроническом Т-2 и афлатоксикозе белых крыс применение энтеросорбента Фитосорб улучшает клинический статус животных, оказывает нормализующее влияние на гематологические и биохимические показатели, естественную резистентность, минимизирует развитие дегенеративно-дистрофических изменений в органах и тканях.

#### **2.2.3.4 Доклиническая оценка энтеросорбента Фитосорб**

Острую оральную токсичность Фитосорба изучали на белых, нелинейных крысах, живой массой 180-210 г., подобранных по принципу аналогов. Испытывали дозы 5000 - 25000 мг/кг массы тела, при однократном введении в желудок. Ни одна испытуемая доза не вызвала гибели животных, следовательно, Фитосорб, согласно ГОСТ 12.1.007.76, относится к 4 классу (малоопасные вещества).

Изучение кумулятивных свойств энтеросорбента Фитосорб проведено на 20 белых нелинейных крысах обоего пола, разделённых на 2 группы. За весь период опыта гибели подопытных крыс не было, что свидетельствует о слабовыраженных кумулятивных свойствах Фитосорба.

Для изучения местного раздражающего действия на кожу использовали 6 белых кроликов. За день до проведения опыта участки кожи в области спины размером 7x8см с двух сторон от позвоночника тщательно выстригали. Фитосорб в виде кашицы, смешанной с дистиллированной водой, наносили на кожу с одной стороны позвоночного столба из расчета 10, 20 и 30 мг/см<sup>2</sup>, а контролем служила противоположная сторона, где была нанесена дистиллированная вода. В течение этого времени каких-либо функциональных нарушений кожи (эритема, отек, трещины, изъязвления, изменения температуры) не отмечалось.

При постановке реакции специфического лизиса лейкоцитов уровень лизиса лейкоцитов 10% составил  $8,8\% \pm 0,15\%$ , что свидетельствует об отсутствии аллергенных свойств препаратов.

Изучение мутагенных свойств энтеросорбента Фитосорб проводили метафазным анализом aberrаций хромосом в клетках костного мозга. Фитосорб не вызывал значимого увеличения выхода клеток с хромосомными aberrациями. Длительное действие Фитосорба, а также влияние его на энергию роста, гематологические и биохимические показатели крови изучали в опытах на белых крысах, разделенных по принципу аналогов на 3 группы: 2 опытные и 1 контрольная. Крысы 1 группы служили биологическим контролем и в течение 30 сут получали обычный рацион, к рациону 2 и 3 групп добавляли энтеросорбент Фитосорб из расчёта 0,5 и 5% к массе корма. На 30 день эксперимента опытных и контрольных животных взвешивали, убивали методом декапитации и проводили исследование крови.

Прирост массы тела у белых крыс опытных групп происходил синхронно и достоверно не отличался от показателей у животных контрольной группы ( $p > 0,05$ ). На протяжении всего эксперимента поедаемость корма, общее состояние животных опытных групп не изменились, и соответствовали группе контроля; все крысы остались живы, изменений поведенческих и других реакций не наблюдалось.

Провели изучение эмбриотоксического и тератогенного действий энтеросорбента Фитосорб. Установлено, что введение энтеросорбента Фитосорба беременным самкам не вызвало увеличения предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов, общей эмбриональной смертности. Показатели пред- и постимплантационной гибели эмбрионов, общей эмбриональной смертности у животных опытных и контрольных групп не имели существенной разницы и находились в пределах физиологических норм.

### **2.2.3.5 Профилактическая эффективность энтеросорбента Фитосорб в производственных условиях**

Изучение профилактической эффективности энтеросорбента Фитосорб провели на базе ООО «Новая жизнь» Кукморского района Республики Татарстан. Сформировано 3 группы подсвинков средней живой массой 20-25 кг по 30 животных в группе. Первая группа животных служила контролем и получала корм из хозяйства; вторая и третья опытные группы животных помимо корма из хозяйства получали энтеросорбент Фитосорб из расчета 0,5 и 1% от рациона соответственно. Продолжительность эксперимента составила 30 дней. Установлено, что введение в рацион энтеросорбента Фитосорб оказало положительное влияние на динамику живой массы особей опытных групп. Так, к концу эксперимента абсолютный прирост живой массы поросят первой группы составил 37,3 кг, а их аналогов второй и третьей групп - 37,4 и 39,4 кг, что выше на 9,3% и 20,6%, соответственно. Среднесуточный прирост живой массы в среднем на животное второй и третьей групп составил 483 и 526 г, против 437 г в контрольной группе.

### **2.2.4 Изучение сочетанного воздействия микотоксинов на животных**

#### **2.2.4.1 Влияние сочетанного микотоксикоза на течение реакции системной анафилаксии**

В исследованиях использовали крыс-самцов линии Вистар с исходной массой 180 - 200 г. В течение 7 дней перед началом эксперимента животных содержали на стандартном рационе вивария, не содержащем яичного белка. Были сформированы 12 групп крыс по 10 животных в каждой (таблица). Животные 1-й группы (биологический контроль, интактные животные) получали стандартный рацион; 2-й группы (контрольная группа) - стандартный рацион и дополнительно были сенсibilизированы модельным аллергеном - овальбумином (ОВА); 3-й группы - стандартный рацион, контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг; 4-й группы - корм, контаминированный ДОН в дозе 0,5 мг/кг; животные; 5-й группы - корм, контаминированный

зеараленоном в дозе 0,5 мг/кг; 6-й группы - стандартный рацион, контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг и дополнительно были сенсibilизированы ОВА; 7-й группы – корм, контаминированный ДОН в дозе 0,5 мг/кг и дополнительно были сенсibilизированы ОВА; животные 8-й группы - корм, контаминированный зеараленоном дозе 0,5 мг/кг и дополнительно были сенсibilизированы ОВА; 9-й группы - стандартный рацион, сочетанно контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг и ДОН в дозе 0,5 мг/кг; 10-й группы- стандартный рацион, сочетанно контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг и ДОН и ZEN в дозе по 0,5 мг/кг; животные 11-й группы – корм, сочетанно контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг и ДОН в дозе 0,5 мг/кг и дополнительно были сенсibilизированы ОВА; животные 12-й группы – корм, сочетанно контаминированный Т-2 токсином в дозе 50 мкг/кг, ДОН (0,5 мг/кг), зеараленон (0,5 мг/кг) и дополнительно были сенсibilизированы ОВА.

Реакцию системной анафилаксии моделировали на 1, 3 и 5-й день; животных 2-й, 4-й, 6-й и 8-й групп внутрибрюшинно сенсibilизировали овальбумином (по 100 мкг) в объеме 0,2 мл на стерильном изотоническом растворе натрия хлорида, на 21-й день эксперимента вводили бустерную дозу антигена, уменьшенную в 10 раз в сравнении с первоначальной. Кормление продолжали до утра 30-го дня эксперимента. Брали кровь для определения уровня специфических антител на аллерген, другим животным для индукции реакции системной анафилаксии вводил «разрешающую» дозу раствора овальбумина - 3 мг/кг массы тела.

Тяжесть системной анафилаксии наблюдали в течение 30 минут. Одним из проявлений реакции системной анафилаксии является увеличение проницаемости кишечника к высокомолекулярным соединениям. Для определения изменения проницаемости слизистой кишечника внутривентриально вводили всем крысам ПЭГ - 4000 по 500 мг. Интенсивность гуморального иммунного ответа оценивали по содержанию IgG-антител к овальбумину (ИФА). Концентрацию ПЭГ-4000 определяли в моче рефрактометрическим детектированием, а величину всасывания выражали в процентах от введенной дозы (рис. 6 и 7).

Наблюдали проявления анафилаксии в виде атаксии, цианоза, пареза задних конечностей. У некоторых животных наблюдали диарею. Летальные исходы не регистрировались. Отмечалось увеличение сенсibilизации в опытных группах по сравнению с контрольными. Максимальное усиление наблюдали в группе животных, получавших сочетанно микотоксины.

При потреблении кормов, сочетанно загрязненных микотоксинами, происходило усиление сенсibilизации по сравнению с ответом на алергизацию у животных, не получавших загрязненный корм.

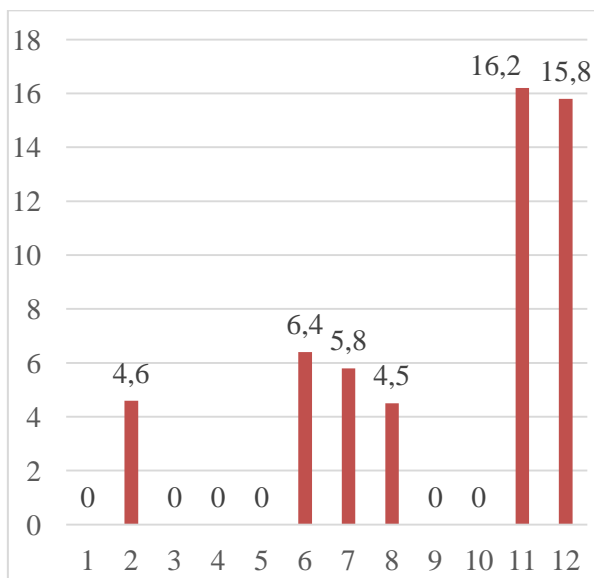


Рисунок 6 – Содержание антител в сыворотке крови крыс, мг/мл

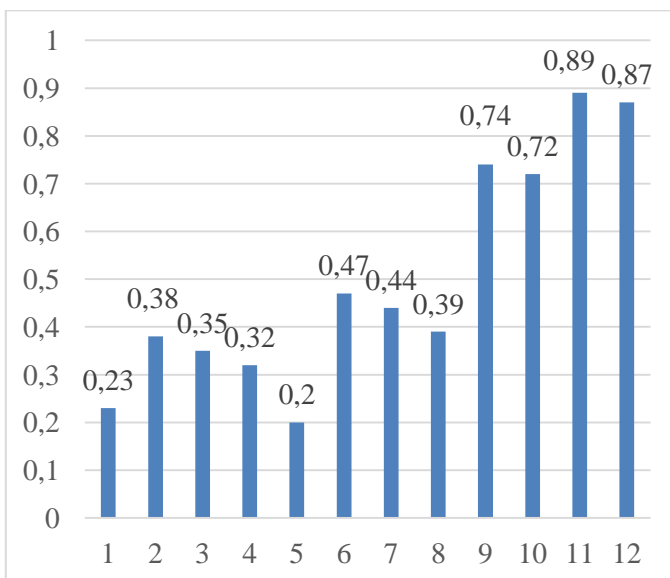


Рисунок 7 – Содержание ПЭГ-4000 в моче крыс, % от введенной дозы

При сочетанном загрязнении микотоксинами установлена тенденция к повышению проницаемости стенки тонкой кишки для ПЭГ у несенсибилизированных животных, что в определенной мере указывает на неблагоприятное влияние контаминированных микотоксинами кормов на проницаемость тонкой кишки. Одновременная контаминация кормов микотоксинами повышала степень ее проницаемости для ПЭГ 4000 для крыс, сенсибилизированных ОВА.

#### 2.2.4.2 Изучение сочетанного воздействия микотоксинов и лечебно-профилактической эффективности Фитосорба на поросятах

Эксперименты проведены на поросятах-отъемышах крупной белой породы. Было сформировано 4 группы животных по 3 свинки в каждой: 1-ая группа служила биологическим контролем и получала корм не содержащий микотоксины; 2-ая группа получала рацион контаминированный, Т-2 токсином в дозе 70 мкг/кг корма; 3-ая группа - рацион контаминированный, Т-2 токсином в дозе 70 мкг/кг корма, зеараленоном в дозе 50 мкг/кг корма и дезоксиниваленолом 1000 мкг/кг корма; 4-ая группа – рацион, контаминированный Т-2 токсином в дозе 70 мкг/кг корма, зеараленоном в дозе 50 мкг/кг корма, дезоксиниваленолом 1000 мкг/кг корма и органический энтеросорбент Фитосорб в количестве 0,5% от рациона. Длительность эксперимента - 30 суток. Для изучения влияния микотоксинов на антителообразование у поросят в ходе опыта вакцинировали вакциной против эшерихиоза животных. Вакцину вводили внутримышечно в область задней поверхности бедра в дозе 1 мл на 15 сут опыта. Поросята были орально заражены патогенной культурой *Clostridium perfringens* *mun* C №392 из коллекции штаммов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», в объёме 2 мл, содержащую  $1 \times 10^6$  микробных клеток *Clostridium*.

Проведено определение числа белых клеток крови на фоне хронического поступления микотоксинов. В опытных группах у животных наблюдали колебание показателей лейкоцитов.



Динамика изучаемых показателей свидетельствует, что в третьей группе животных значительное увеличение лейкоцитов на 10 и 20 сут опыта было связано с несколькими факторами: воздействие микотоксинов (в начале интоксикации закономерно увеличение форменных элементов), признаки диареи животных (фактор сгущения крови) и инфекционная нагрузка, которую мы подтвердили в течение опыта. Увеличение количества гранулоцитов мы связываем с аллергизирующим действием микотоксинов и реакцией организма на бактериальные токсины тоже. В группе профилактируемой препаратом «Фитосорб» эти изменения были менее выражены. Так, к 30 сут эксперимента относительно показателей группы биологического контроля в третьей группе животных, получавших с кормом токсины сочетанно, отмечали значительное увеличение общего количества лейкоцитов на 6,4%, во второй и четвертой группе животных, наоборот наблюдали их снижение на 3,1% и 5,9% соответственно.

Наиболее значимые изменения количества эритроцитов были в третьей группе - содержание эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов было закономерно ниже, чем в группе биологического контроля, на 41,5, 22,5 и 76% соответственно, при этом во второй и четвертой группах снижение данных показателей было менее значительным.

В опытных группах у животных наблюдали незначительное колебание содержания общего белка, вписывающееся в статистическую погрешность. Более выраженное уменьшение было в третьей группе – к 30 сут на 13,1%. Во второй группе статистическое значимое уменьшение было только к концу опыта на 10,3%. Аналогичная закономерность отмечалась и в концентрации глюкозы - более выраженное уменьшение было в третьей группе к 30 сут на 56,8% соответственно. Содержание билирубина значительно возрастало в третьей группе – на 408%, во второй – на 192%, что свидетельствует о токсической нагрузке на печень. Следует отметить увеличение активности АЛТ к 10 и 20 сут на 39,4 и 76% и к 30 сут на 41%, в третьей группе относительно биологического контроля. Учитывая снижение коэффициента Ритиса до 0,95 при коэффициенте 1,31 в контроле, это свидетельствует о нарушениях, происходящих в печени животных первой группы.

Подтверждена активация ПОЛ при воздействии микотоксинов на поросят. Во всех группах наблюдали увеличение содержания МДА, а в группе токсического контроля увеличение было более выражено. К концу эксперимента увеличение МДА составило в третьей группе на 67,4%, во второй – на 33,3% четвертой – на 14,8%.

Во второй группе отмечалось снижение Т-лимфоцитов только к концу опыта (11,3%), наиболее выраженное уменьшение Т-лимфоцитов наблюдали в третьей группе - на 31,3%. В четвертой группе животных статистически значимого уменьшения Т- и В- лимфоцитов, не выявляли,

Содержание (титр) антител к вакцине против эшерихиоза в реакции агглютинации сыворотки опытных животных в третьей группы (введение микотоксинов сочетанно) характерен наименьший показатель титра антител

– 1:40. Наибольшие привесы были в группе биологического контроля – 244 г, наименьший привес был в третьей группе – 148,3г (-39,2%). Конверсия корма также отличалась по группам: от 3,55 в третьей группе до 5,07 в первой. Сохранность во всех группах, кроме первой, была на уровне 100%, в третьей группе – 66,6% (табл. 2).

Таблица 2 – Зоотехнические показатели поросят (n=3)

Показатель	Группа животных			
	1	2	3	4
Масса тела на начало опыта, кг	14,9 ±0,22	15,2 ±0,21	14,65 ±0,22	14,86 ±0,23
Масса тела на конец опыта, кг	22,22 ±0,36	21,02 ±0,40	19,1 ±0,64*	21,79 ±0,37
Прирост массы тела за 30 сут, кг	7,32	5,82	4,45	6,93
Среднесуточный привес, г	244,0	194,0	148,3	231,0
Израсходовано корма на 1 гол за 30 сут, кг	26,0	26,6	22,6	26,8
Конверсия корма	3,55	4,06	5,07	3,86
Сохранность животность, %	100	100	66,6	100

\* -  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$

В конце эксперимента при сочетанном микотоксикозе поросят провели убой животных из каждой опытной группы для ветеринарно-санитарной экспертизы мяса. Во второй группе рН мяса был выше биологического контроля на 0,07 ед, в третьей – на 0,43 ед, в четвертой – на 0,23 ед. Бульон из мяса пролеченных поросят был прозрачным, в бульоне нелеченых - наблюдалось помутнение. Реакция на пероксидазу в профилактированной группе была положительная, в пробах контрольной затравки - отрицательной. При проведении формольной реакции в мясе поросят, получавших токсины без лечения, наблюдались хлопья. По количеству ЛЖК мясо поросят, получавших микотоксины сочетанно, было выше биологического контроля на 35,6% ( $P < 0,001$ ), тогда как в остальных группах отличались незначительно. При микроскопии мазков-отпечатков в поле зрения были видны единичные кокки и палочковидные бактерии.

При гистологическом исследовании было выявлено, что поедание корма, зараженного несколькими микотоксинами и при инфекционной нагрузке приводит к патологическим изменениям в ряде органов. В печени развивалась белковая дистрофия с очаговыми некрозами, достигающими 1/3 клеток дольки. В почках развивалась белковая дистрофия, сопровождающаяся десквамацией эпителиальных клеток в просветы канальцев, скоплениями белковых масс в просветах канальцев. В стенке 12-перстной кишки наблюдалось усиление полиморфноклеточной инфильтрации, появлялись очаговые некрозы слизистой. В стенке желудка определялась инфильтрация лимфоидными клетками, очаговые некрозы слизистой. В яичниках разви-

вался колликвационный некроз фолликула с клеточной реакцией (рис ). В профилируемой группе эти изменения были менее выражены.

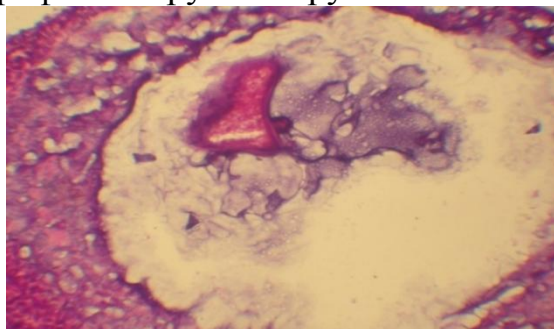


Рисунок 8 - Яичник поросёнка, получавшего сочетанно микотоксины. Колликвационный некроз фолликула с клеточной реакцией. Окраска гематоксилином и эозином, световая микроскопия, x 200.

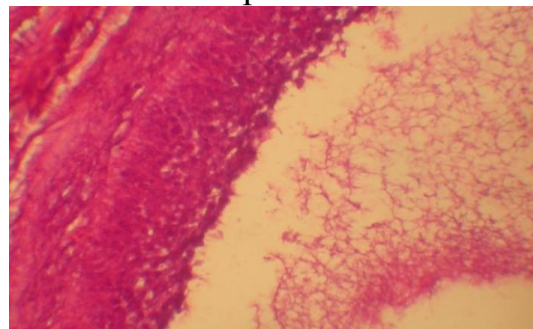


Рисунок 9 - Яичник поросёнка, получавшего сочетанно микотоксины и адсорбент. Патологических изменений не обнаружено. Окраска гематоксилином и эозином, световая микроскопия, x 200.

Для анализа цитоморфологических изменений при интоксикации были исследованы элементы гепатоцитов и нефрона (почечные тельца, проксимальные канальца). При действии фузариотоксинов патологический эффект диагностируется по следующим морфологическим критериям: уменьшение (на порядок) объема почечного тельца и деформация капсулы Боумена-Шумлянского, отек синусоидного пространства в печени 2 В ответ на поражающее воздействие микотоксинов эндотелиоциты клубочка формируют выросты в просвете сосуда, способствующие адгезии лейкоцитов. Такая деформация эндотелиальных клеток капилляров клубочка может быть рассмотрена как реакция неспецифической защиты. Нарушается ультраструктура фильтрационного барьера клубочка, повышая ее проницаемость для крупных молекул. Уменьшается площадь адсорбции первичной мочи в следствии деградации микровилляпикальной зоны; в базальном лабиринте располагаются поврежденные митохондрии с вакуолизированным матриксом и разрушенными кристами, что указывает на нарушение энергообеспечения процессов активного транспорта ионов и реадсорбции веществ.

Желчные капилляры увеличиваются в размерах, билиарные микровилли частично редуцируются, межклеточные контакты гепатоцитов разрушаются, все это приводит к нарушению экскреции желчи и попаданию ее в кровотоки. Отмечается частичная редукция микроворсинок и увеличение перисинусоидного пространства (Диссе), что ведет к уменьшению количества веществ, поступающих в кровь из гепатоцитов и обратно и снижает скорость обменных процессов.

При действии микотоксинов отмечается разрыхление паренхимной ткани, гепатоциты не образуют тесных соединений, а между соседними клетками между клетками образуются зазоры около 10 нм.

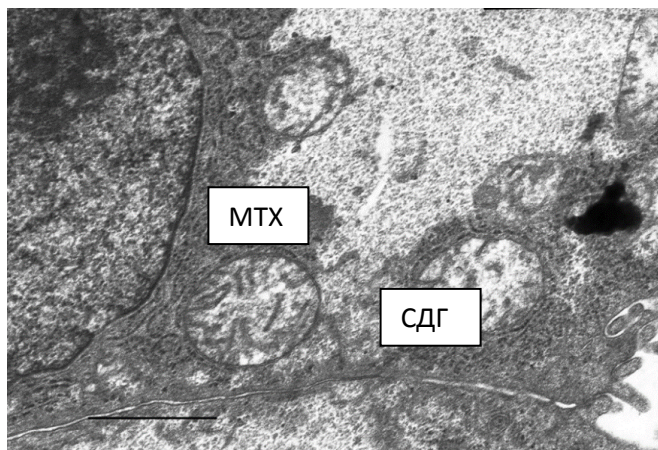


Рисунок 10 - Область перикариона гепатоцита поросенка получавшего сочетано микотоксины (слева), зона желчного капилляра (справа), увеличенный межклеточный зазор. Условные обозначения: МТХ – митохондрии, СДГ – соединение двух гепатоцитов

Данные свидетельствуют о негативном сочетанном воздействии микотоксинов даже на уровне разрешенных концентраций на иммунологические, гематологические и биохимические параметры поросят, прирост массы тела и сохранность, эти данные особенно актуальны учитывая инфекционную нагрузку, что нередко регистрируется в промышленных свинокомплексах. Вероятно, необходимо рассматривать состояние снижения сопротивляемости организма под действием незначительных количеств микотоксинов, как самостоятельную форму микотоксикозов, имеющую, более важное практическое значение, чем острые формы

Результаты исследований на белых крысах, овцах и свиньях показали эффективность адсорбентов при хронических микотоксикозах. Однако даже при выраженном профилактическом эффекте сорбентов у животных, при наличии афлатоксина в рационе происходило поражение печени, а при наличии Т-2 токсина происходило снижение показателей неспецифической резистентности животных. Это послужило обоснованием для оценки гепатозащитных свойств различных препаратов с гепатопротекторным действием при отравлении животных афлатоксином В<sub>1</sub> и различных иммуномодуляторов при отравлении животных Т-2 токсином с отбором более эффективных и доступных из них для усиления профилактического действия сорбентов

### 2.2.5 Скрининг потенциальных антидотов афлатоксина В<sub>1</sub> и потенциальных иммуномодуляторов при Т-2 токсикозе

Для проведения скрининга различных гепатопротекторных препаратов были использованы белые крысы, живой массой 200-210 г, обоего пола, разделенных по принципу аналогов на 6 групп по 8 животных в каждой. Перед постановкой опыта подопытные животные получали естественно загрязненный корм, содержащий афлатоксин В<sub>1</sub> в количестве 1000 мкг/кг, в течение 7 сут до проявления выраженных клинических признаков отравления. Испытывали гепатозащитные свойства 5 препаратов: Эссенциале форте, Эссливер форте, Гептрал, экстракты Солянки холмовой и Расторопши пятни-

Результаты исследований на белых крысах, овцах и свиньях показали эффективность адсорбентов при хронических микотоксикозах. Однако даже при выраженном профилактическом эффекте сорбентов у животных, при наличии афлатоксина в рационе происходило поражение печени, а при наличии Т-2 токсина происходило снижение показателей неспецифической резистентности животных. Это послужило обоснованием для оценки гепатозащитных свойств различных препаратов с гепатопротекторным действием при отравлении животных афлатоксином В<sub>1</sub> и различных иммуномодуляторов при отравлении животных Т-2 токсином с отбором более эффективных и доступных из них для усиления профилактического действия сорбентов

стой. Гепатопротекторы вводили перорально в дозе 0,6 мг/сут в течение 7 дней.

При назначении гепатопротекторов активность АСТ и АЛТ в крови уменьшалась в 12-24 и 7-13 раза по сравнению с показаниями у животных контрольной группы, но оставалась выше фоновых показателей в 5-17 и 1-7 раза. Все исследованные гепатопротекторы препятствовали развитию гипербилирубинемии – концентрация общего билирубина снижалась на 2,8-11,4%, но была выше фоновых показателей на 3,3-13,3%. Препараты препятствовали развитию гипопропротеинемии. При сравнительном анализе гепатопротекторов, выявили, что Гептрал проявляет наиболее выраженный гепатозащитный эффект из сравниваемых препаратов. Гептрал в инъекционной форме выпуска

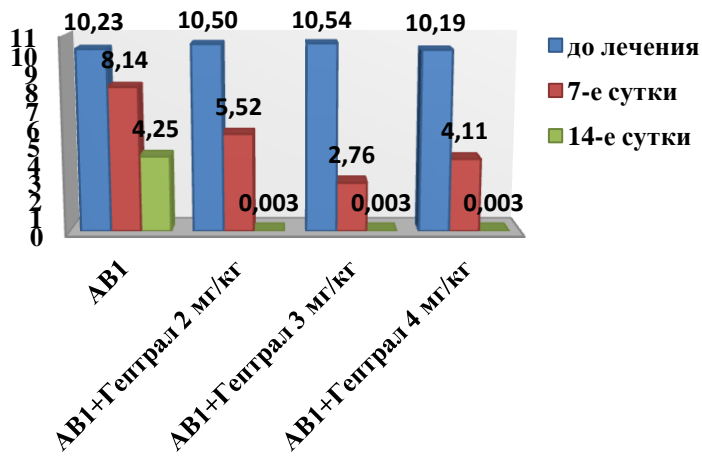


Рисунок 11 – Содержание афлатоксина В<sub>1</sub> в печени у белых крыс

практичен в дозировке и способах введения: внутривенно – в условиях клиники, внутримышечно – как в условиях клиники, так и в производственных условиях. Эффективность Гептрала дополнительно подтвердили в подостром афлатоксикозе на крысах, с изучением остаточных количеств афлатоксина В<sub>1</sub> в печени (рис 11) и при совместном применении Гептрала и энтеросорбента БАУ-А на свиньях. Полученные экспериментальные данные свидетельствовали о целесообразности включения препаратов гепатопротективным действием, в частности Гептрала, в комплексную фармакотерапию микотоксикозов ценных животных.

Скрининг средств – потенциальных иммуномодуляторов при Т-2 токсикозе проведен на 60 половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой тела 160-180 г., разделённых на 5 групп по 12 особей в каждой. Животным первой группы вводили Т-2 токсин в виде 5% водно-спиртового раствора внутривентрально, в дозе 1/5 ЛД<sub>50</sub> (0,64 мг/кг массы тела), ежедневно; второй группы - ежедневно Т-2 токсин в виде 5% водно-спиртового раствора внутривентрально, в дозе 1/5 ЛД<sub>50</sub> и иммуностимулятор левамизол внутривентрально в дозе 4 мг/кг массы в течение 3 дней, после 4-х дневного перерыва, вновь вводили в течение 3 дней; третьей группы – ежедневно внутривентрально Т-2 токсин (1/5 ЛД<sub>50</sub>) и ксимедон внутривентрально в дозе 75 мг/кг массы ежедневно; четвертой - ежедневно вводили внутривентрально Т-2 токсин и внутривентрально димефосфон в дозе 90 мг/кг массы каждый день; пятой - ежедневно вводили внутривентрально Т-2 токсин (1/5 ЛД<sub>50</sub>) и тималин внутримышечно в дозе 0,2 мг/кг массы в течение 5 суток. Длительность

печени (рис 11) и при совместном применении Гептрала и энтеросорбента БАУ-А на

опыта составила 15 суток. Кроме того, всех животных вакцинировали вакциной против эшерихиоза животных, внутримышечно, в дозе 0,5 мл/гол.

Результаты опытов свидетельствуют, что применение ксимедона, димефосфона и тималина оказывало защитный эффект на гематологические показатели животных. Так, в первой группе животных на фоне введения токсина без применения иммуностимуляторов («токсический контроль»), количество эритроцитов на 15 сут уменьшалось на 24,3%; лейкоцитов – на 26,4%; гемоглобина - на 11,6%. Во второй группе животных на 15 сут снижение гематологических показателей составило – 19,9; 21,4 и 9,4% соответственно. В третьей группе снижение было в те же сроки - на – 18,7; 22,6 и 10,1%, в четвертой - на 15,8; 16,5 и 8,7% и пятой группе - на 16,4; 15,2 и 9,2% соответственно.

Содержание Т- и В- лимфоцитов в крови всех групп животных, относительно фоновых показателей, закономерно снижалось. Однако в первой группе снижение количества Т – и В – лимфоцитов составило 16,2 и 11,0%, во второй группе понижение было менее значительным - 12,7 и 8,9%, в третьей группе - 11,8 и 8,3%, в четвертой группе - 9,5 и 6,1% и в пятой группе - 8,1 и 6,3% соответственно. Максимальный титр антител в сыворотке наблюдался в третьей и пятой группах (1:320). Для первой группы был характерен наименьший показатель титра.

Таким образом, применяемые иммуностимуляторы оказали защитный эффект, который выражался в улучшении гематологических, иммунологических показателей, параметров неспецифической резистентности. Наиболее выраженный защитный эффект при интоксикации крыс Т-2 токсином показали (по возрастающей) ксимедон, димефосфон и тималин. Однако, по показателям титра антител тималин оказался более эффективным. Эффективность совместного применения тималина и Фитосорба подтвердили экспериментально при хроническом Т-2 микотоксикозе на белых крысах и овцах. Совместное применение иммуномодулятора тималин и сорбента Фитосорб оказывало положительное влияние при Т-2 микотоксикозе: наблюдаемое снижение гематологических и иммунологических показателей было менее значительными, чем в контрольных группах, которым задавали только микотоксин.

Экономический ущерб наносимый сельскому хозяйству микотоксинами и вызываемыми ими микотоксикозами складывается из затрат на утилизацию и/или исключение корма, снижения продуктивности животных, массовых заболеваний и падежа животных, затрат на лечебно-профилактические мероприятия. Экономическая эффективность, профилактики сочетанного микотоксикоза поросят на фоне инфекционной нагрузки составила 8,84 рубля на 1 рубль затрат.



### 3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, из вышеперечисленного можно сделать следующие выводы:

1. Микотоксикологическим анализом кормов установлено, что в кормах из хозяйств регионов Поволжья в 44% образцах были обнаружены микотоксины. В 27% образцах обнаружено по 1 виду микотоксина, в 12% образцах - 2 микотоксина и в 5% образцах - 3 и более микотоксинов. В сельскохозяйственных предприятиях с регистрацией различных заболеваний животных (инфекционные, незаразные и отравления) - микотоксины были обнаружены в 68% образцах (комбикорма, зерновые, силос и сенаж): афлатоксины от 0,5 до 135,6 мкг/кг корма, Т-2 токсин - от 35,6 до 131,8 мкг/кг корма, зеараленон - от 64,7 до 1854,4 мкг/кг корма и дезоксиниваленон - от 220,0 до 2450,0 мкг/кг корма и др.

2. При микологическом исследовании кормов выявлялись представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Stachybotrys*, *Cladosporium*. Наибольшим токсигенным потенциалом обладают представители родов *Aspergillus* (37%), *Penicillium* (17%), *Fusarium* (21%), *Trichoderma* (7%), *Mucor* (10%), *Stachybotrys* (3%).

3. Впервые на лабораторных и сельскохозяйственных животных установлено усиление токсического действия сочетанных (Т-2, зеараленон и ДОН) микотоксикозов, которое сопровождалось значительными изменениями клинико-гематологических, биохимических и иммунологических показателей, чем при раздельном поступлении токсинов.

4. Разработан органический адсорбент Фитосорб, который является малотоксичным для лабораторных и сельскохозяйственных животных, не оказывает раздражающего и алергизирующего действия на кожу и слизистые оболочки, не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием. Применение Фитосорба из расчета 0,5-1% от рациона не оказывает отрицательного действия на общее состояние и показатели клинического статуса животных. Установлено, что в механизме адсорбции микотоксинов, наиболее важную роль играет хемосорбция и образование химических связей, при незначительном вкладе физических взаимодействий.

5. При сочетанном загрязнении микотоксинами Т-2 токсином, ДОН и зеараленоном, установлена тенденция к повышению проницаемости стенки кишечника. При этом наблюдается усиление алергизирующего действия модельного алергена – овальбумина.

6. Совместное поступление в организм поросят с кормом в течение 30 сут фузариотоксинов в допустимых дозировках Т-2 токсина в дозе 70 мкг/кг корма, зеараленона в дозе 50 мкг/кг корма и дезоксиниваленола в дозе 1000 мкг/кг корма на фоне инфекционной нагрузки микроорганизмами *Clostridium*, вызывает осложненный клостридиозом микотоксикоз, который сопровождается активацией перекисного окисления липидов, угнетением гематологических и иммунологических показате-

лей и развитием патологических процессов в тканях и органах поросят. Проявляется клинически выраженный эстрогенизм у свинок (кровотечения). Увеличивается конверсия корма в 1,4 раза. Эти явления не наблюдаются при раздельном введении токсинов. При воздействии микотоксинов нарушается ультраструктура фильтрационного барьера клубочка почек поросят, повышается ее проницаемость для крупных молекул: желчные капилляры увеличиваются в размерах, межклеточные контакты гепатоцитов разрушаются.

7. Введение в рацион свиней энтеросорбента Фитосорб при хроническом сочетанном фузариомикотоксикозе (Т-2 токсин, дезоксиниваленон и зераленон) из расчета 0,5 и 1% от рациона способствует повышению среднесуточного прироста живой массы на 10,5 и 20,3%, соответственно относительно непрофилактируемых животных. Введение энтеросорбентов бентонита в дозе 1-2% от рациона, зоокарба в дозе 0,2-0,5%, Фитосорба в дозе 0,5-1% от рациона животных при хроническом сочетанном Т-2 и афлатоксикозе оказывает положительное влияние на показатели неспецифической резистентности животных, что проявляется возрастанием интенсивности фагоцитоза, снижением фагоцитарного числа на 10%, лизоцимной активности - на 11% и концентрации  $\gamma$ -глобулиновой фракции - на 9,7%, относительно непрофилактируемых животных.

8. Разработана схема применения гепатопротектора Гептрал и энтеросорбента активного угля марки БАУ-А при остром и подостром афлатоксикозе на лабораторных (белые крысы) и сельскохозяйственных (свиньи) животных. Положительные тенденции при использовании Гептрала (3 мг/кг, в/м) и активного угля (1% от сухого вещества рациона, внутрь) выявлены по результатам клиники, морфологии и биохимии крови, а также по патоморфологическим изменениям и относительной массы внутренних органов.

9. Для лечения и профилактики иммуносупрессии вызванной Т-2 токсином отобран препарат тималин. Применение препарата внутримышечно в дозе 0,1-0,2 мг/кг массы тела благоприятно влияет на физиологическое состояние животных при подостром и хроническом Т-2 токсикозе (белые крысы, овцы), что проявляется положительным влиянием на гематологические (увеличение уровня эритроцитов на 11,3%, лейкоцитов – на 27,5%, гемоглобина – на 8,2%), биохимические и иммунологические показатели (повышение фагоцитарной активности на 14,2%, Т-лимфоцитов на 11,5%, В-лимфоцитов на 9,0%, титра антител в 2 раза). Применение тималина в дозе 0,1 мг/кг раздельно или в сочетании с включением в рацион энтеросорбента Фитосорб (0,5% от массы корма) профилактирует токсическое и иммуносупрессивное действие Т-2 токсина.

10. Мясо поросят, получавших сорбент Фитосорб по органолептическим, физико-химическим, бактериологическим показателям



соответствует требованиям ГОСТов, установленных для доброкачественного мяса.

#### 4 ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Полученные результаты исследований необходимо учитывать при диагностике, профилактике и лечении сочетанных отравлений животных, вызванных микотоксинами и для адекватной оценки безопасности корма.

В качестве средств профилактики и лечения отравлений, вызванных микотоксинами как отдельно, так и сочетано, в зависимости от уровня загрязнения микотоксинами и ценности животных рекомендуется применять бентонит, зоокарб, уголь БАУ-А, Фитосорб отдельно или в сочетании с гепатопротектором Гептрал и иммуномодулятором Тималин.

Результаты исследований отражены в 8 нормативных документах, утвержденных Отделением ветеринарной медицины РАСХН (2011 - 2017 гг.), Отделением сельскохозяйственных наук РАН (2018) и НТС Минсельхоза России. Для специалистов в области токсикологии, фармакологии, иммунологии и экологии изданы 4 монографии.

Полученные результаты рекомендуется использовать на курсах повышения квалификации зоотехнических и ветеринарных специалистов, при чтении лекций, проведении практических занятий со студентами по клинической фармакологии, фармакотерапии, иммунологии и терапии.

#### 5 СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

##### Статьи, опубликованные в изданиях,

##### рекомендуемых ВАК РФ Минобразования РФ

1. Иванов, А.В. Сочетанное воздействие физических и химических факторов на клинические и биохимические показатели животных / А.В. Иванов, М.Я. Тремасов, Ф.Г. Ахметов, Э.К. Папуниди, **Э.И. Семёнов** // Ветеринарный врач. – 2007. № 4. – С. 4-5.
2. Чулков, А.К. Проблема микотоксикозов при завозе и адаптации импортируемого скота / А.К. Чулков, А.В. Иванов, **Э.И. Семёнов** и др. // Ветеринарный врач. – 2007. № 5. – С. 56.
3. Ахмадышин, Р.А. Адсорбция микотоксина Т-2 клеточной стенкой дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Р.А. Ахмадышин, А.В. Канарский, З.А. Канарская, **Э.И. Семёнов** и др. // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2007. № 8. – С. 46-48.
4. Ахмадышин, Р.А. Роль клеточной стенки в адсорбции Т-2 токсина дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* / Р.А. Ахмадышин, А.В. Канарский, З.А. Канарская, **Э.И. Семёнов** и др. // Ветеринарный врач. – 2008. № 1. – С. 11-12.
5. Тремасов, М.Я. Актуальные проблемы ветеринарной микотоксикологии / М.Я. Тремасов, **Э.И. Семёнов**, А.В. Иванов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2009. – Т. 2. – С. 28.

6. Канарская, З.А. Адсорбция Т-2 микотоксина некрахмалистыми полисахаридами / З.А. Канарская, А.В. Канарский, **Э.И. Семёнов** и др. // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2009. № 4. – С. 58-60.
7. Тремасов, М.Я. Агроминеральное сырье - эффективное средство профилактики смешанных микотоксикозов / М.Я. Тремасов, **Э.И. Семёнов** // Вестник ветеринарии. – 2009. № 4 (51). – С. 36-40.
8. Валиуллин, Л.Р. Влияние энтеротоксикантов на загрязнение агропродукции токсичными грибами / Л.Р. Валиуллин, **Э.И. Семёнов**, А.Н. Чернов и др. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010. № 1. – С. 188.
9. Тремасов, М.Я. Проблема микотоксикозов животных / М.Я. Тремасов, А.В. Иванов, К.Х. Папуниди, **Э.И. Семёнов** // Ветеринарный врач. – 2010. № 5. – С. 16-19.
10. Иванов, А.В. О проблеме микотоксикозов в животноводстве / А.В. Иванов, М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди, **Э.И. Семёнов** // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2010. – С. 194.
11. Танасева, С.А. Афлатоксины в кормах для свиней / С.А. Танасева, В.Н. Садыкова, **Э.И. Семёнов** // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2010. – С. 368.
12. Канарская, З.А. Адсорбция микотоксинов техническими лигнинами / З.А. Канарская, А.В. Канарский, **Э.И. Семёнов** и др. // Химия растительного сырья. – 2011. № 1. – С. 59-63.
13. Валиев, А.Р. Иммуносупрессия в патогенезе Т-2 микотоксикоза и её фармакокоррекция / А.Р. Валиев, **Э.И. Семёнов** и др. // Ветеринарный врач. – 2011. № 2. – С. 4-6.
14. Тремасов, М.Я. Актуальные проблемы ветеринарной токсикологии / М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди, **Э.И. Семёнов** и др. // Вестник ветеринарии. – 2012. № 4 (63). – С. 16-18.
15. Канарская, З.А. Биоконверсия сточных вод производства бумаги с получением бактериальных полисахаридных энтеросорбентов микотоксинов / З.А. Канарская, А.В. Канарский, Д.А. Дулькин, **Э.И. Семёнов** и др. // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т. 15. № 14. – С. 186-189.
16. Валиуллин, Л.Р. Поиск эффективных адсорбентов для профилактики сочетанных микотоксикозов у животных / Л.Р. Валиуллин, Валиев А.Р., **Э.И. Семёнов** и др. // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2012. № 2 (8). – С. 86-88.
17. Дейнеко, И.П. Получение адсорбента микотоксинов кислотной модификацией древесины / И.П. Дейнеко, З.А. Канарская, А.В. Канарский, **Э.И. Семёнов** // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2013. № 203. – С. 143-155.

18. Иванов, А.А. Проблема микотоксикозов в птицеводстве / А.А. Иванов, **Э.И. Семёнов**, И.М. Егоров // Ветеринарный врач. – 2013. № 1. – С. 2-5.
19. **Семёнов, Э.И.** Антитоксическая эффективность иммуномодулятора тималин / Э.И. Семенов, Л.Е. Матросова, Е.Ю. Тарасова и др. // Вестник ветеринарии. – 2013. № 3 (66). – С. 55-58.
20. **Семёнов, Э.И.** Сравнительная оценка адсорбирующей активности дрожжей по отношению к микотоксинам / Э.И. Семёнов, Л.Е. Матросова, Е.Ю. Тарасова и др. // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16, № 10. – С. 195-197.
21. Ягофаров, Д.Ш. Получение биопродуктов из вторичных ресурсов переработки картофеля / Д.Ш. Ягофаров, З.А. Канарская, **Э.И. Семёнов** и др. // Вестник Технологического университета. – 2015. – Т. 18, № 9. – С. 257-260.
22. Матросова, Л.Е. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса свиней при афлатоксикозе / Л.Е. Матросова **Э.И. Семёнов**, С.А. Танасева, и др. // Мясная индустрия. – 2015. № 5. – С. 51-52.
23. Семенова, С.А. Оценка токсичности кормов по регионам Российской Федерации / С.А. Семенова, Р.М. Потехина, **Э.И. Семёнов** и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2015. – Т. 224, № 4. – С. 196-199.
24. Валиуллин, Л.Р. Комбинированное воздействие микотоксинов на физиологические показатели крыс / Л.Р. Валиуллин, Д.Д. Хайруллин, **Э.И. Семёнов** и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2015. – Т. 221, № 1. – С. 45-48.
25. Канарская, З.А. Строение и свойства лигнина как сорбента микотоксина Т-2 / З.А. Канарская, А.В. Канарский, **Э.И. Семёнов** и др. // Химия природных соединений. – 2016. № 6. – С. 924-928.
26. Изучение эффективности применения гепатопротектора "Гептрал" и сорбента "БАУ-А" при отравлении свиней афлатоксином В1 / С.А. Танасева, **Э.И. Семёнов**, А.Р. Валиев и др. // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2016. № 3 (19). – С. 93-99.
27. Коростелева, В.П. Сорбент "Фитосорб", пробиотики "Спас" и "Энтероспорин" для профилактики микотоксикозов животных / В.П. Коростелева, М.Я. Тремасов, **Э.И. Семёнов** и др. // Ветеринарный врач. – 2016. № 5. – С. 3-8.
28. Канарский, А. В. Химическая структура лигнинов и их сорбционная способность по отношению к микотоксину Т-2 / А.В. Канарский, З.А. Канарская, Л.С. Кочева, **Э.И. Семёнов** и др. // Бутлеровские сообщения. – 2016. – Т. 46, № 5. – С. 67-73.
29. Танасева, С.А. Афлатоксикоз свиней: эффективная схема лечения с применением гепатопротектора, энтеросорбента и пробиотика / С.А. Танасева, Л.Е. Матросова, **Э.И. Семёнов** и др. // Свиноводство. – 2016. № 4. – С. 51-53.

30. Канарский, А.В. Структурно-химические характеристики лигнинов и их сорбционная способность в отношении 4,15-диацетокси-8-(3-метилбутирилокси)-12,13-эпокситрихотецен-3-ола / А. В. Канарский, А.П. Карманов, З.А. Канарская, Л.С. Кочева, **Э.И. Семёнов** и др. // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2017. № 11. – С. 2165-2172.

31. **Семёнов, Э.И.** Применение нового адсорбента "Модибент" для профилактики микотоксикозов / Э.И. Семёнов, С.А. Танасева, А.Р. Валиев и др. // Ветеринарный врач. – 2017. № 3. – С. 30-34.

32. Апостолиди, К.Ю. Санитарно-токсикологическая оценка кормов из РСО-Алания / К.Ю. Апостолиди, Ф.Н. Чеходариди, К.Х. Папуниди, **Семёнов Э.И.** и др. // Ветеринарный врач. – 2017. № 3. – С. 39-43.

33. Папуниди, К.Х. Проблема сочетанных отравлений животных / К.Х. Папуниди, **Э.И. Семёнов**, И.Р. Кадиков // Ветеринария и кормление. – 2018. № 2. – С. 71-74.

34. Кочева, Л.С. Влияние строения лигнинов на эффективность сорбции Т-2 микотоксина / Л.С. Кочева, А.В. Канарский, А.П. Карманов, **Э.И. Семёнов** и др. // Актуальная биотехнология. – 2018. № 3 (26). – С. 398-402.

35. Карманов, А.П. Биосинтетические ароматические полимеры и их сорбционная способность в отношении микотоксина зеараленона / А.П. Карманов, А.В. Канарский, Л.С. Кочева, **Э.И. Семёнов** и др. // Актуальная биотехнология. – 2018. № 3 (26). – С. 408-412.

36. Мишина, Н.Н. Обоснование введения в рацион животных комбинации сорбентов неорганической и органической природы при Т-2 токсикозе / Н.Н. Мишина, **Э.И. Семёнов**, К.Х. Папуниди и др. // Ветеринарный врач. – 2019. №2 – С. 30-36.

37. Потехина, Р.М. Микологическая оценка кормов в Республике Татарстан / Р.М. Потехина, О.К. Ермолаев, З.Х. Сагдеева, **Э.И. Семёнов** // Ветеринарный врач. – 2019. №1. – С. 19-23.

**Статьи, в научных изданиях,  
входящих в базу данных Scopus и Web of Sciens**

38. **Semenov E.I.**, Tremasov M.Y., Matrosova L.E. et al. Joint effect of the mycotoxins t-2 toxin, deoxynivalenol and zearalenone on the weaner pigs against a background of the infection load // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – Vol. 7, N 1. – P. 1860-1868.

39. **Semenov E.I.**, Tremasova A.M., Saitov V.R. et al. Efficiency of application of a polysaccharide enterosorbent of "fitosorb" for prevention of the combined mycotoxicoses // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – Vol. 7, N 4. – С. 2229-2237.

40. Kanarskaya Z.A., Kanarskii A.V., **Semenov E.I.** et al. Structure and properties of lignin as an adsorbent for mycotoxin T-2 // Chemistry of Natural Compounds. – 2016. – Vol. 52, N 6. – С. 1073-1077.

41. Kanarskii A.V., Kanarskaya Z.A., **Semenov E.I.** et al. Chemical structure characteristics of lignins and their sorption capacity towards 4,15-diacetoxy-8-

(3-methylbutyryloxy)-12,13-epoxytrichothecen-3-ol // Russian Chemical Bulletin. – 2017. – Vol. 66, N 11. – P. 2165-2172.

42. **Semenov E.I.**, Mishina N.N., Kadikov I.R. et al. Screening drugs-potential immunomodulators for T-2 mycotoxicosis // Bali Medical Journal. – 2017. – Vol. 6, N 2. – P. 110-114.

43. Papunidi K.Kh., Kadikov I.R., Saitov V.R., **Semenov E.I.** et al. Homeostatic system of sheep against the background of combined effects of pollutants and the use of therapeutic and preventive agents // Bali Medical Journal. – 2017. – Т. 6, № 2. – P. 83.

44. Yumangulova G.M., **Semenov E.I.**, Potekhina R.M., et al. Effect of abiotic stressors on T-2-producing environmental isolates of *Fusarium sporotrichioides* // Journal of Pharmacy Research. – 2017. – Vol.11, Iss. 10. – P. 1226-1229.

45. **Semenov E.I.**, Mishina N.N., Tanaseva S.A. et al. Systemic Anaphylaxis Due to Combined Mycotoxicosis in Wister Rats // Indian Vet. J., June 2018, 95 (06): 16–19.

46. Samsonov A.I., **Semenov E.I.**, Plotnikova E.M. et al. Prophylactic Efficacy of Adsorbents in Case of Combined Impact of T-2 and Aflatoxin B1 on the Organism of the Mink // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. N 9 (3), – P. 530-535. – ISSN: 0975-8585. (Индия)

47. Samsonov A.I., **Semenov E.I.**, Plotnikova E.M. et al. Mink Farming and Mycotoxicosis // Indian Vet. J., May 2018, 95 (05) : 52-55

#### Патенты и рекомендации

48. Пат. № 2646895 Рос. Федерация, Способ профилактики Т-2 токсикоза лактирующих коров – / Р.У. Бикташев, **Э.И. Семёнов**, М.Я. Трёмасов, К.Х. Папуниди, и др.; заявка № 2017118826/13 (032546) от 30.05.2017.

49. Санитарно-микологическая оценка кормов и улучшение их качества / Иванов А.В., Трёмасов М.Я., Папуниди К.Х., Ахметов Ф.Г., Семёнов Э.И. и др. – М.; ФГНУ «Росинформагротех», 2006. – 32с.

50. Методические рекомендации по профилактике смешанных микотоксикозов животных / Иванов А.В., Трёмасов М.Я., Папуниди К.Х., Ахметов Ф.Г., Семёнов Э.И. и др. – М.; 2009. – 30с. (Утв. РАСХН от 05.06.2009 г.).

51. Методические рекомендации по применению энтеросорбентов при отравлениях животных / Трёмасов М.Я., Папуниди К.Х., Иванов А.В., Семёнов Э.И. и др. - М.; 2010. – 30с. (Утв. РАСХН от 11.06.2010 г.).

52. Методические рекомендации по профилактике микотоксикозов животных / Иванов А.В., Трёмасов М.Я., Папуниди К.Х., Семёнов Э.И. и др. - М.; 2010. – 114 с. (Утв. РАСХН от 21.03.2010 г.).

53. Методическое пособие. Диагностика, профилактика и лечение сочетанных отравлений животных вторичными метаболитами микроскопических грибов рода *Fusarium* / Иванов А.В., Трёмасов М.Я., Папуниди К.Х., Семёнов Э.И. и др. – М.; 2012. – 53 с. (Утв. РАСХН от 21.02.2012 г.).

54. Методическое пособие. Пути снижения ущерба от микотоксинов / Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Семёнов Э.И. и др. – М.; 2013. – 29 с. (Утв. РАСХН от 08.07.2013 г.).

55. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению микотоксикозов животных / Семёнов Э.И., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х. и др.. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2017. – 66 с. (Рекомендовано к изданию секцией ветеринарии Научно-технического совета Минсельхоза России, протокол №17 от 19 октября 2016 г.).

56. Методические рекомендации по лечению и профилактике комбинированных поражений животных ионизирующим излучением, микотоксинами и химическими агентами / Конюхов Г.В., Папуниди К.Х. и др. – М.; 2018. – 32 с. (Утв. Отделением сельскохозяйственных наук РАН).

#### Монографии

57. Папуниди, К.Х. Микотоксины (в пищевой цепочке): монография / К.Х. Папуниди, М.Я. Тремасов, В.И. Фисинин, А.И. Никитин, **Э.И. Семёнов**. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2017. – 158 с. Издание 2-е, доп.;

58. Папуниди, К.Х. Кормовые отравления и токсикоинфекции животных: монография / К.Х. Папуниди, А.И. Никитин, **Э.И. Семёнов** [и др.]. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2018. – 212 с.

59. Папуниди, К.Х. Применение сорбентов для профилактики нарушения обмена веществ и токсикозов животных: монография / К. Х. Папуниди, **Э.И. Семёнов**, И.Р. Кадиков и др. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2018. – 207 с.

60. Папуниди, К.Х. Комбинированные поражения животных и разработка средств профилактики и лечения: монография / К.Х. Папуниди, Г.В. Конюхов, Р.Н. Низамов, **Э.И. Семёнов**, И.Р. Кадиков. – Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2019. – 248 с.

#### Публикации в других изданиях

61. Ахмадышин, Р.А. Применение адсорбентов микотоксинов в кормах для животных и птицы / Р.А. Ахмадышин, А.В. Канарский, З.А. Канарская, М.Я. Тремасов, **Э.И. Семенов** // Птицефабрика. – 2007. № 6. – С. 21.

62. Иванов, А.В. Мониторинг микотоксинов в пищевой цепи / А.В. Иванов, Тремасов М.Я., **Семёнов Э.И.** // Журн. экологии и промышленной безопасности. – 2010. № 3 (47). – С. 32-34.

63. Тарасова, Е. Ю. Определение микотоксинов в кормах / Е.Ю. Тарасова, **Э.И. Семенов**, М.Я. Тремасов // Междунар. науч.-практ. конф. «Наука и образование в жизни современного общества» в 12 ч. 2012. – С. 130-132.

64. Папуниди, К.Х. Микотоксикологический анализ кормов Республики Татарстан / К.Х. Папуниди, **Э.И. Семенов**, А.А. Иванов // Нива Татарстана. – 2012. № 2-3. – С. 40.

65. **Семенов, Э.И.** Изучение течения Т-2 токсикоза на фоне применения сорбентов и иммуностимуляторов / **Э.И. Семенов** // Ветеринарная медицина. – 2013. № 97. С. – 468.

66. Иванов, А.В. Грибы продуценты афлатоксина В1 в Поволжье / А.В. Иванов, С.А. Танасева, О.К. Ермолаева, **Э.И. Семенов** // Успехи медицинской микологии. 2014. – Т. 13. – С. 347-349.
67. Валиуллин, Л.Р. Снижение рисков загрязнения продовольственного сырья грибами рода *Aspergillus* и их метаболитами / Л.Р. Валиуллин, **Э.И. Семенов** и др. // Успехи медицинской микологии. 2014. – Т. 13. – С. 355-356.
68. **Семёнов, Э.И.** Перекисное окисление липидов при т-2 токсикозе и применении полисахаридного адсорбента / **Э.И. Семенов**, В.И. Дорожкин, М.Я. Трemasов, А.В. Канарский // Успехи медицинской микологии. 2015. – Т. 14. – С. 307-309.
69. Мишина, Н.Н. Гистоструктура внутренних органов при сочетанном Т-2-афлатоксикозе на фоне применения адсорбента / Н.Н. Мишина, Е.Г. Губеева, А.Р. Валиев, **Э.И. Семёнов** // Успехи медицинской микологии. 2015. – Т. 14. – С. 297-301.
70. **Семёнов, Э.И.** Сочетанное воздействие Т-2 токсина, дезоксиниваленола и зеараленона / Э.И. Семёнов // Успехи медицинской микологии. 2015. – Т. 14. – С. 302-306.
71. Трemasов, М.Я. Проблемы микотоксикозов в российской федерации / М.Я. Трemasов, **Э.И. Семёнов**, С.А. Танасева и др. // Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Товароведение и экспертиза, производство пищевых и кормовых продуктов, обеспечение их качества и безопасности». 2016. – С. 224-230.
72. **Семёнов, Э.И.** Загрязнённость продовольственного сырья грибом *Aspergillus fumigatus* / **Э.И. Семёнов**, Р.М. Потехина, С.Р. Габдуллина, и др. // Успехи медицинской микологии. 2016. – Т. 16. – С. 225-227.
73. Канарская, З.А. Взаимосвязь химической структуры и сорбционной способности лигнина в отношении микотоксина Т-2 / З.А. Канарская, А.В. Канарский, **Э.И. Семёнов** и др. // Матер. VII Междунар. конф. «Физикохимия растительных полимеров». 2017. – С. 120-123.
74. Канарская, З.А. Химическая структура и сорбционная способность лигнина в отношении микотоксина Т-2 / З.А. Канарская, А.В. Канарский, **Э.И. Семёнов** и др. // Матер. VII Междунар. конф. «Физикохимия растительных полимеров». 2017. – С. 127-128.
75. Канарский, А.В. Адсорбционные свойства одноклеточных дрожжей в отношении микотоксина Т-2 / А.В. Канарский, З.А. Канарская, **Э.И. Семёнов** и др. // Матер. симп. «Актуальные проблемы теории адсорбции, пористости и адсорбционной селективности». 2017. – С. 230-232.
76. Шуралев, Э.А. Т-2 микотоксин биотестирование на *stylonychia mytilus* и *daphnia magna straus* / Э. А. Шуралев, Л.Р. Валиуллин, О.В. Никитин, **Э.И. Семёнов** // Успехи медицинской микологии. – 2017. – Т. 17. – С. 455-460.
77. Потехина, Р.М. Микологический анализ кормов в Республике Татарстан в 2017 году / Р.М. Потехина, А.Р. Валиев, **Э.И. Семёнов** // Матер.

междунар. науч.-прак. конф. посвящ. 90-летию со дня рожд. проф. В.А. Киршина «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» – Казань, 2018. – С. 168-171.

78. **Семёнов, Э.И.** Проблема интерпретации результатов исследований при диагностике микотоксикозов животных / **Э.И. Семёнов** // Матер. междунар. науч.-прак. конф. посвящ. 90-летию со дня рожд. проф. В.А. Киршина «Актуальные проблемы ветеринарной медицины». – Казань, 2018. – С. 187-191.

79. Трёмасова, А.М. Практический опыт профилактики микотоксической диареи молодняка сельскохозяйственных животных / А.М. Трёмасова, М.Я. Трёмасов, **Э.И. Семёнов**, Л.Р. Валиуллин // Матер. междунар. науч.-прак. конф. посвящ. 90-летию со дня рожд. проф. В.А. Киршина «Актуальные проблемы ветеринарной медицины». – Казань, 2018. – С. 196-199.

80. Замятина, Е.С. Определение общей токсичности кормов методом биотестирования / Е.С. Замятина, З.А. Канарская, **Э.И. Семёнов** // Матер. XIII междунар. науч.-практ. конф. «Качество продукции, технологий и образования». 2018. – С. 63-66.

81. Сайтов, В.Р. Диоксины, тяжелые металлы и микотоксины - проблема экологической безопасности продукции животноводства / В.Р. Сайтов, К.Х. Папуниди, **Э.И. Семёнов** и др. // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. – 2018. № 20. – С. 360-362.

82. **Семёнов Э.И.** Микотоксины в молочном скотоводстве [Электронный ресурс] / **Э.И. Семёнов**, К.Х. Папуниди, Н.Н. Мишина, Р.У. и др. URL: <http://xn--80adjabp7awdo4m.xn--p1ai/analytics/publikatsii-chenykh/mikotoksiny-v-molochnom-skotovodstve>, свободный