Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

На правах рукописи

МУХАРЛЯМОВА АЙСЫЛУ ЗАВДАТОВНА

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ РЕТИНОЛА АЦЕТАТА И ЦЕОЛИТА ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ КОРМОВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ АФЛАТОКСИНОМ В1

4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
Тремасова Анна Михайловна

Казань – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ…….……..4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……..….....…….….……11
1.1 Общая характеристика микотоксинов…….…..…….……..11
1.2 Характеристика и биологическое действие афлатоксина В1…….….....14
1.3 Общая характеристика и биологическое действие витаминов…….....18
1.4 Способы снижения негативного действия микотоксинов…….....…...27
1.5 Методы определения витамина А……..…….....….33
2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ……..……..……..……..38
2.1 Материалы и методы исследований…….…..……..….38
2.2 Результаты собственных исследований……..……..…...….44
2.2.1 Исследование уровня загрязнения объектов окружающей среды, зерновых культур и кормов пестицидами и микотоксинами……44
2.2.2 Разработка способов индикации афлатоксина В1 и витамина А в биологической матрице……49
2.2.2.1 Оптимизация условий пробоподготовки и режима хроматографирования витамина А в сыворотке крови и печени животных …….....49
2.2.2.2 Подбор условий пробоподготовки патологического материала для извлечения афлатоксина В1……...……...52
2.2.2.3 Установление метрологических характеристик ВЭЖХ метода определения афлатоксина В1…….……..54
2.2.3 Результаты лабораторных испытаний на кроликах……..…….….56
2.2.3.1 Санитарно-гигиенические характеристики условий содержания экспериментальных кроликов в условиях вивария…….……...57
2.2.3.2 Морфо-биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита……...59

2.2.3.3 Показатели неспецифической резистентности кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита……72
2.2.3.4 Оценка остаточных количеств афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита……..……...75
2.2.4 Результаты научно-хозяйственных испытаний на поросятах……77
2.2.4.1 Санитарно-гигиенические характеристики условий содержания поросят в условиях производственного опыта……79
2.2.4.2 Морфо-биохимические показатели крови поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита……..…....81
2.2.4.3 Показатели неспецифической резистентности поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита……....93
2.2.4.4 Оценка остаточных количеств афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита…….....97
2.2.5 Ветеринарно-санитарная оценка качества мяса поросят……...99
2.2.5.1 Органолептическая оценка мяса поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита ……..…..99
2.2.5.2 Физико-химические и микроскопические показатели мяса поросят…...100
2.2.6 Расчет экономической эффективности…...…….……..103
3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ……..…….…...105
3.1 Практические предложения …….…113
3.2 Перспективы дальнейшей разработки …….……...113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ……....114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……..……...115
ПРИЛОЖЕНИЯ……..……...…149

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Основная цель сельскохозяйственной науки и практики заключается в получении и снабжении населения безопасными и высококачественными продуктами как животного, так и растительного происхождения. Но в то же время получение хорошего результата при решении этой проблемы ограниченно из-за неблагоприятного состояния окружающей среды, загрязненной экотоксикантами техногенного и природного происхождения [86, 139, 142]. При этом наибольшую опасность представляют микотоксины.

Микотоксины являются токсичными продуктами, которые выделяются в результате процесса жизнедеятельности микроскопическими (плесневыми) грибами и представляют угрозу для здоровья животных и населения [85, 91, 106, 122]. На данный момент рядом авторов такими как Папуниди К.Х. и соавт. (2018), Пинюгин А.В. и соавт. (2018), описано более 300 разнообразных микотоксинов. При их поступлении в организм вместе с кормом или кормовым сырьем у млекопитающих и птиц выявляются токсические явления различной степени тяжести [141, 154, 171, 175, 248]. В работах [48, 117, 174, 252] отмечено, что не менее одной четвертой части, производимой в мире сельскохозяйственной культуры поражено этими биологическими контаминантами, обладающими разной структурой и свойствами, изученными не в полной мере, и перечень данных загрязнителей возрастает в результате новых открытий, сделанных исследователями в этом направлении.

Среди микотоксинов наибольшее внимание уделяется афлатоксинам. Анализ отечественной и зарубежной литературы свидетельствует о существенной угрозе вреда здоровью животных и человека, который могут нанести афлатоксины [69, 156, 185, 212, 234].

Данные полученные Антиповым В.А. и соавт. (2007), Брылиным А.П. (2019); Тремасовым М.Я. и соавт. (2012), Barati M. et al. (2018), указывают на то, что корма, загрязненные афлатоксинами, вызывают у животных комплексные отравления от острой степени тяжести до хронической, при которой падает естественная

резистентность, иммунный статус, что является фактором, повышающим предрасположенность к болезням инфекционной и незаразной этиологии, что влечет за собой ухудшение сохранности, продуктивности и качества продукции животного происхождения.

Это свидетельствует о необходимости совершенствования профилактических мероприятий и поиска эффективных факторов, способных снижать токсическое действие афлатоксинов и улучшать ветеринарно-санитарные показатели мяса. Поэтому актуальность темы и ее разработка представляет, как теоретический, так и практический интерес.

Степень разработанности темы. На сегодняшний день для обнаружения афлатоксинов в пищевой продукции, продовольственном сырье и кормах применяют следующие методы: тонкослойная хроматография, иммуноферментный анализ, жидкостная хроматография [169]. Однако, отсутствуют утвержденные методы определения афлаткосинов в биологическом материале (печени, мышечной ткани, крови и т д). Ввиду пагубного влияния афлатоксина на состояние здоровья животных, от которого зависит их продуктивность и качество животноводческой продукции, приняты нормативные положения. Установлены предельно-допустимые концентрации микотоксина в пищевых и кормовых продуктах [13, 84, 114, 182, 190, 268].

Несмотря на то, что к настоящему времени накоплен значительный материал, свидетельствующий о способности некоторых витаминов изменять биологическую активность афлатоксинов, данные о влиянии витамина А на их токсические эффекты малоизучено. Показано, что избыток витамина А в рационе не оказывал какого-либо влияния на токсическое действие на организм афлатоксина [254] и, в то же время, было отмечено усиление токсического действия данного токсина как при недостатке, так и при избытке витамина А [201]. При этом Д. Диаз (2006) отмечает, что введение в корм ретинола снижает уровень переокисления липидов при микотоксикозах.

Поиском средств, направленных на профилактику афлатоксикозов занимаются многие ученные, как российские, так и зарубежные. Для снижения

чувствительности животных к действию афлатоксинов применяют пищевые компоненты, фармакологические средства, сорбенты и др. Использование энтеросорбентов является одним из основных методов для детоксикации организма. Следует учитывать, что эффективность сорбции определяют с одной стороны различные свойства микотоксинов, с другой различная природа сорбента. Однако для получения продукции с улучшенными качественными показателями, помимо детоксикации организма необходимо применять средства, обладающие антиоксидантной активностью, способностью активизировать защитные механизмы организма животных.

Ввиду отсутствия данных по изучению ветеринарно-санитарной экспертизы мяса животных на фоне применения ретинола ацетата и цеолита в том числе при афлатоксикозе и в связи с актуальностью данной проблемы были проведены настоящие исследования.

Цель и задачи. Целью исследования явилось изучение влияния ретинола ацетата и цеолита на организм животных и ветеринарно-санитарные показатели мяса в том числе и при афлатоксикозе.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи:

1. Провести мониторинг экотоксикантов (техногенных и природных) в объектах окружающей среды, зерновых культурах и кормах для сельскохозяйственных животных;
2. Разработать оптимальную схему пробоподготовки биологического материала для последующего определения остаточных количеств афлатоксина В1 методом жидкостной хроматографии;
3. Изучить влияние ретинола ацетата и цеолита на динамику живой массы, морфо-биохимические показатели крови, неспецифическую резистентность животных в том числе и при афлатоксикозе. Определить остаточные количества афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани животных;
4. Установить влияние ретинола ацетата и цеолита на органолептические, физико-химические и бактериологические показатели мяса животных при афлатоксикозе;

5. Рассчитать экономическую эффективность выращивания поросят с применением ретинола ацетата и цеолита на фоне основного и токсичного рациона.

Научная новизна. Разработана оптимальная схема пробоподготовки с применением твердофазной экстракции для определения остаточных количеств афлатоксина В1 в биологическом материале с последующим определением методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуориметрическим детектированием.

Впервые экспериментально обоснована эффективность совместного введения в рацион ретинола ацетата и цеолита при афлатоксикозе. Установлено, что применение витамина А и цеолита способствуют уменьшению негативного эффекта в следствии функциональной и материальной кумуляции афлатоксина, что выражается в нормализации клинического проявления и исследованных показателей крови. Выявлено, что мясо поросят, получавших комбикорм, содержащий афлатоксин В1 с дополнительным введением ретинола ацетата и цеолита, по ветеринарно-санитарным показателям не отличалось от таковых в мясе здоровых животных. Доказана целесообразность добавления в рацион поросят ретинола ацетата и цеолита для улучшения морфо-биохимических показателей, иммунологического статуса, продуктивности и качества мяса. Материалы данной диссертации могут расширить имеющиеся в ветеринарной практике мероприятия по профилактике афлатоксикоза. Доказана экономическая эффективность применения ретинола ацетата и цеолита на фоне основного и токсичного рациона поросят.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанный способ определения афлатоксина В1 методом ВЭЖХ позволяет контролировать его остаточное содержание в органах и тканях сельскохозяйственных животных, что расширяет спектр возможностей по контролю качества пищевой продукции.

Выполненные исследования и полученные результаты дают теоретические и практические представления об изменениях морфологических, биохимических параметров крови, также показателей естественной резистентности, органолептических, физико-химических и бактериологических параметрах мяса

животных при афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита; позволяют рекомендовать включить в рацион животных ретинола ацетат и цеолит при отравлении афлатоксином В1 для снижения отрицательного влияния данного токсина на организм животных, что положительно сказывается на качестве продуктов их убоя. Данные, полученные в ходе исследований, дают возможность усовершенствовать процесс выращивания поросят, повысить продуктивность и улучшить качество мясной продукции.

Разработаны «Методические рекомендации по определению афлатоксинов в биологическом материале методом высокоэффективной жидкостной хроматографии».

Полученные результаты научно-исследовательской работы используются в учебном процессе (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия; ФГБОУ ВО МарГУ, г. Йошкар-Ола, Россия).

Методология и методы исследования. Методология исследования состояла из выполнения работы в несколько этапов с теоретическим обоснованием выбора диссертационной темы.

Теоретической базой диссертационной работы явились работы российских и зарубежных ученых, посвященных проблеме афлатоксикоза.

Для достижения поставленных задач использован комплекс методов, включающих общетеоретические и эмпирические методы, а также комплекс специальных клинических, морфо-биохимических, иммунологических, хроматографических и ветеринарно-санитарных методов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Мониторинговыми исследованиями выявлено наличие экотоксикантов, как природного, так и техногенного происхождения в объектах окружающей среды, зерновых культурах и кормах для сельскохозяйственных животных;

2. Предложенный способ позволяет эффективно определять остаточные количества афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани;

3. Ретинола ацетат и цеолит оказывают положительный эффект на изучаемые параметры, способствуют повышению иммунного статуса и улучшению ветеринарно-санитарных показателей мяса.

Личный вклад автора. Диссертантом совместно с научным руководителем разработаны основные направления научного исследования, сформулирована цель, поставлены задачи исследовательской работы. Автором самостоятельно проанализированы данные научной литературы, освоены методы исследований, проведены анализ и обработка полученных результатов, сформулированы выводы.

Степень достоверности и апробация материалов диссертации. Исследования проводились на достаточном по объему материале, который был обработан с применением современных методик и оборудования, согласно утвержденному плану.

Результаты экспериментальных данных, являющиеся основой диссертации, доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных сессиях ученого совета ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по рассмотрению отчетов о НИР (Казань, 2019-2023), также Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки сельского хозяйства: Мосоловские чтения» (Йошкар-Ола, 2019, 2020), Международной научной конференции «Физико-химическая биология как основа современной медицины» (Минск, 2021), Международной научно-практической конференции «Наука, технологии, кадры – основы достижений прорывных результатов в АПК» (Казань, 2021), Международной научно-практической конференции «Современные проблемы экспериментальной и клинической токсикологии, фармакологии и экологии» (Казань, 2021), Международной научно-практической конференции «Глобальные вызовы развития естественных, технических и гуманитарных наук» (Белгород, 2022). Достоверность полученных результатов также подтверждается публикациями в рецензируемых научных изданиях, в том числе из перечня ВАК и Scopus, методическими рекомендациями.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и

науки РФ, 1 статья в издании, цитируемой в базе данных Scopus, а также 1 методическая рекомендация.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 157 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, основного содержания работы (включающего в себя материалы и методы и результаты собственных исследований), заключения, практических предложений, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 17 таблицами, 29 рисунками. Список использованной литературы включает 279 литературных источников, из них 100 - зарубежных авторов.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика микотоксинов

Микотоксины – это токсичные соединения, которые выделяют различные виды плесневых микроскопических грибов. Они могут нанести огромный ущерб здоровью, продуктивности и благополучию животных и человека при проглатывании, вдыхании или всасывании через кожу. Исследования показали, что существует порядка 300 видов всевозможных микроскопических грибов, вырабатывающих свыше 100 метаболитов, обладающих токсичным действием [68, 186, 235, 198].

По результатам многочисленных исследований, очевидно, что пищевые продукты и кормовые ресурсы поражены микотоксинами, вырабатываемыми множеством грибов, обладающих токсигенным потенциалом, что является глобальной проблемой для комбикормовых, животноводческих предприятий и общественного здравоохранения. Они наносят огромный экономический ущерб, начиная от гибели людей, снижения продуктивности у животных и увеличения затрат на ветеринарные услуги и услуги в области здравоохранения. При сильном загрязнении возникают общие потери, когда продукция объявляется непригодной для потребления, и, следовательно, уничтожается. К наиболее распространенным и представляющим опасность микотоксинам относят афлатоксины, трихотецены, зеараленон, охратоксины, патулин [9, 10, 116, 117, 155, 223, 243, 248, 279]. Основная масса микотоксинов представлена в виде кристаллов и обладает устойчивостью к термической, физической и химической обработке. Они остаются стабильными при обработке кислотой и распадаются на менее токсичные вещества при действии щелочей [186]. Загрязнение кормов, сырья и продуктов питания как растительного, так и животного происхождения микроскопическими грибами возожно на любом этапе производства, хранения, реализации [81, 100]. В результате употребления животными таких кормов или человеком такой продукции появляются отравления – микотоксикозы. Следует отметить, что зерно и комбикорма это не единственные средства воздействия микотоксинов на

животных, установлено, что при свободном выпасе животные также подвергаются воздействию микотоксинов. Например, в траве, предназначенной для выпаса были обнаружены Т-2 токсин, НТ-2 токсин, зеараленон, а остатки афлатоксина М1 были найдены в молоке коров, находящихся на свободном выпасе [24, 49, 69, 186, 228].

Проникая в организм, микотоксины оказывают воздействие практически на все органы и системы. При этом каждый микотоксин обладает свойственным только ему механизмом действия. Сущность механизма заключается в подавлении синтеза белков, РНК и ДНК с возникновением аддуктов последнего, в повреждении мембранных структур и активировании процесса переокисления липидов в тканях, запуске апоптоза клетки. Например, доказано, что афлатоксины, стеригматоцистин преимущественно влияют на печень [37, 53, 84, 95].

Ввиду того, что свойства микотоксинов довольно разнообразны, они оказывают различное токсическое воздействие, которое обусловлено количеством токсина, длительностью введения, вида и возраста, также пола животного и его физиологического статуса. Например, в исследованиях Fantinati P. (2018) отмечено, что в результате потребления жвачными животными корма, загрязненного микотоксинами возрастает вероятность к возникновению таких эффектов как мастит, гастроэнтерит, гепатоцеллюлярные повреждения, поражения почек, низкое развитие яичек, количество сперматозоидов.

Из-за того, что иммунодепрессия, которую провацируют многие микотоксины выражается скрытно, признаки микотоксикоза ассоциируются с инфекциями. Микотоксины способствуют образованию новых признаков при инфекционных болезнях или обострению симптомов свойственных для данного заболевания, также они могут недопустить возникновение каких-либо симптомов. Например, афлатоксикоз у домашней птицы сопровождается заболеванием стеатогепатозом, однако если в корме также есть ОхА, то заболевание не наступит [65]. Следует отметить, что при загрязнении кормов несколькими микотоксинами, к примеру сочетании афлатоксина с иным микотоксином вероятен широкий спектр биологических ответов, в частности снижение темпов роста и развития, иммуннодепрессия, вплоть до смертности [99].

Неблагоприятное воздействие микотоксинов усиливается при недостаточном содержании в рационе белков, жиров, витаминов, минеральных соединений. На степень выражения заболевания, вызванного микотоксинами, влияют следующие факторы: уровень токсина в рационе, синергизм, длительность потребления, условия содержания и кормления животных. Признаками, определяющими образование микотоксикозов могут быть снижение продуктивности, подавление иммунитета, которое проявляется в плохом иммунном ответе на проведенную вакцинацию [4, 109, 119, 121, 134, 146, 191, 253].

Благодаря тому, что большое количество грибов, вырабатывающих токсины, могут одновременно генерировать различные микотоксины, в кормах, пищевых продуктах содержится несколько микотоксинов, что увеличивает уровень их опасности, например, одновременное присутствие охратоксина А и афлатоксина В1 в субстрате приводит к усилению негативного эффекта последнего. Следует отметить, что содержание микотоксина при этом может быть и менее существующей ПДК [80, 92, 120, 233].

Несмотря на мероприятия, направленные на уменьшение риска воздействия микотоксинов, в частности, передовые технологии ведения сельского хозяйства, ужесточение контроля качества продукции, применения надежных систем хранения, исследования последних лет показали, что существует высокий риск рапространения микотоксинов. Распространенность находится на экстремальном уровне в Северной и Центральной Америке, Южной Азии, наряду с этим таким регионам как Юго-Восточная Азия, Океания и Европа присущ умеренный или высокий риск рапространения микотоксинов. Следует учитывать, что рост экспортируемого и импортируемого сырья, продуктов и кормов создает условия для повышения выработки микотоксинов в сотни раз [199].

Многочисленные экспериментальные данные показали, что в последнее время, в кормах довольно часто обнаруживаются микотоксины грибов рода *Fusarium* и *Aspergillus*. В наибольшей степени чувствительными к микотоксинами культурами считаются кукуруза, просо, пшеница, сорго, соя, арахис. [62, 87, 113, 147, 152, 161, 164, 186, 189]. Семеновым Э.И. и соавт (2018) показано, что

афлатоксин был обнаружен в кормах в диапазоне 0,5-135,6 мкг/кг (где наибольшее количество было отмечено в комбикормах). По результатам микологических исследований, выполненных Танасевой С.А. и соавт. (2021) выявлено преимущественное содержание токсигенных грибов вида *Aspergillus flavus* в образцах зерновых культур и кормов, производимых на территории Республики Татарстан.

1.2 Характеристика и биологическиое действие афлатоксина B1

Афлатоксины продуцируются в основном микроскопическими грибами рода *Asp. flavus*, *A. parasiticus* и в небольшом количестве *A. nomius*. Следует отметить, что из 20 типов афлатоксинов на данный момент идентифицированы только B1, B2, G1, G2. *A. flavus* продуцирует афлатоксин типа B, в то время как другие два штамма микроскопических грибов продуцируют оба типа афлатоксина и B и G. Среди различных представителей семейства афлатоксинов, токсин B1 обладает наибольшими токсичными и канцерогенными свойствами по отношению к животным и человеку [42, 54, 207, 256]. В печени афлатоксин B1 биотрансформируется митохондриальной окислительной системой цитохрома P 450 и впоследствии выделяется в молоко в виде афлатоксина M1, канцерогенность которого на порядок ниже чем у афлатоксина B1 [187, 221, 241]. Для создания афлатоксинов нужны значительная влажность – относительная влажность воздуха 80-90%, влажность субстрата – выше 18% и температура в пределах 27-30 °C [190].

С химической точки зрения афлатоксины в неполярных растворителях не растворимы, довольно слабо растворяются в воде. К наиболее подходящим растворителям следует отнести хлороформ, метанол, диметилсульфоксид и другие растворители. Воздух, свет, в частности УФ излучения оказывают разрушающее действие на молекулу токсина, однако, при технологической обработки продукта, содержащего микотоксин, его остаточные количества могут быть обнаружены. Температура плавления афлатоксинов составляет 190-320 °C. По результатам М.

Bayezit et al. (2019) исследовавшим образцы ультрапастеризованного молока установлено, что афлатоксин М1 был обнаружен в 30,77% образцах, при этом в половине из этих положительных проб его уровень был выше допустимых пределов.

Отмечена определенная зависимость продуцирования афлатоксинов от вида зерна, года, климатических зон страны, продолжительности хранения и pH субстрата [188]. Афлатоксины являются наиболее распространенными поллютантами большинства сельскохозяйственных культур, к которым относятся пшеница, кукуруза, рис, арахис [246, 269], а также кормов [98]. В результате мониторинга образцов зерновых культур, производимых в России, был выявлен гриб *Asp. flavus* в 86% случаев.

Среди различных видов животных восприимчивость к афлатоксинам существенно различается. В числе продуктивных животных и птиц чаще подвержены действию афлатоксинов молодые особи [83, 211, 277]. У более старых животных, как правило, меньше остатков афлатоксина В1 в органах и тканях по сравнению с животными более молодого возраста. Возможно, это связано с тем, что с возрастом хорошо развитые органы быстрее удаляют вредные метаболиты из организма. С другой стороны, наличие растущей ткани у молодых животных ограничивает способность избирательно поглощать токсины из-за неполностью функциональных плотных контактов ворсинок кишечника. Также к факторам, влияющим на подверженность афлатоксинам, относят пол животного, например, самцы животных более восприимчивы чем самки. На эффективность абсорбции афлатоксина влияют также стадия лактации и сегмент кишечника. В исследованиях Coppock R.W. et al. (2018) отмечено, что коровы в период ранней лактации могут выделять с молоком 3,8-6,2% потребляемого с кормом афлатоксина В1 в виде афлатоксина М1 по сравнению с 1,8-2,5% при поздней лактации. Также установлено, что скорость абсорбции афлатоксина в двенадцатиперстной кишке, тонкой кишке и рубце у крыс и КРС выше, чем в других сегментах кишечника. Причины выраженных межвидовых различий в чувствительности к острому токсическому действию афлатоксинов изучали многие исследователи, они могут

быть связаны с различиями в скорости метаболизма афлатоксинов у разных животных. Стоит отметить, что нежвачные животные более подвержены воздействию микотоксина по сравнению с жвачными, что связано со способностью микробов рубца метаболизировать токсин [174]. Однако кормление животных влияет на этот процесс, так при большом содержании зерна pH кишечника смещается в кислую сторону, что влечет за собой сокращение микробов и соответственно делает животных уязвимыми перед микотоксином [114, 261].

При остром отравлении данным токсином у животных возникают расстройство ЖКТ, потеря аппетита и как следствие ухудшаются приросты массы тела и соотвественно наблюдаются отставание в их развитии, они становятся более слабыми, возможно появление судороги. Как правило, нарушается свертываемость крови, выявляют многочисленные кровоизлияния, возможна желтушность [63]. Токсические свойства афлатоксинов усиливаются при питании с недостаточным количеством белка, полиненасыщенных жирных кислот, витамина А.

Продуцируемый грибами *Aspergillus*, AFB1 является наиболее смертоносным микотоксином, оказывающим вредное гепатотоксическое, мутагенное, канцерогенное и тератогенное воздействие на многие виды животных. Он также классифицируется как канцероген первой группы [11, 13, 114, 190, 242].

Афлатоксины относят к гепатотропным ядам. При действии которых обнаруживают в клетках печени с несущественными нарушениями белковую и жировую дистрофию, а в поврежденных – значительные некрозы паренхимы. Следует отметить, что локализация некрозов зависит от межвидовых различий, например, перипортальный тип присущ крысам и домащней птице; очаговый характерен для обезьян; центрилобулярный наблюдантся в основном у свиней, КРС, морских свинок, коз. При действии малых доз афлатоксина в гистопатологическом исследовании печени выявляют билиарную пролиферацию с фиброзом, которая зачастую комбинируется с очагами некроза перерастающая в цирроз [189, 238].

В организме афлатоксин биотрансформируется под действием группы ферментов цитохрома P450 в реактивный промежуточный метаболит AFB1-8,9-

эпоксид, который взаимодействует с клеточными макромолекулами (белками, липидами, ДНК) для индукции окислительного повреждения клеток и ДНК, что приводит к токсичности и канцерогенности. Следует отметить, что особенностью канцерогенной активности афлатоксинов является вероятность образования опухолевого процесса, как при долговременном воздействии небольших количеств, так и при однократном введении большого количества афлатоксина [97, 187, 194, 214, 227, 271]

О негативных изменениях, происходящих в печени, свидетельствуют увеличение в сыворотке крови активности щелочной фосфатазы, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и γ-глутамилтрансферазы, уменьшение содержания общего белка [206, 227]. В исследованиях на крысах и утках по изучению активности ферментов печени установлено уменьшение активности супероксиддисмутазы, каталазы, глютатионпероксидазы, глютатион-S-трансферазы и глютатионредуктазы [204, 259].

Карапенян А.Ф. и соавт. (2018) исследуя гистоморфологические изменения почек крыс при экспериментальном афлатоксикозе обнаружили деструктивные и дегенеративные изменения, указывающие на нефротоксичность афлатоксина B1.

К основным механизмам действия афлатоксинов на организм относят их влияние на иммунную систему, которая отвечает за устойчивость к инфекционным заболеваниям, опосредуя иммунную реактивность и врожденные защитные механизмы. Афлатоксины подавляют как клеточно-опосредованный иммунитет, так и гуморальный, а также оказывают большое влияние на факторы неспецифической резистентности организма, снижают способность птицы реагировать на стресс, тем самым делая ее более восприимчивой к воздействию антигенов, таких как патогенные агенты [83, 88, 182, 219, 247, 268]. Отмечено, что введение в рацион афлатоксина увеличивает тяжесть заражения кокцидозом и сальмонеллезом у кур и японских перепелов; у свиней увеличивает тяжесть экспериментальной эризипелоид инфекции. В исследованиях [270] показано, что афлатоксин B1 подавлял иммунную систему у утят.

При поступлении в организм животных невысоких доз афлатоксина, как правило, существенных изменений в их росте или продуктивности не происходит. При этом сам токсин может переходить в жидкие и тканевые продукты животноводства (яйца, мясо и другие съедобные части) [208, 217]. В исследованиях Aly S.A. and Anwer W. (2009) установлено, что потребление птицами корма, загрязненного афлатоксином в количестве 25-100 мкг/кг корма, не оказывало влияния на продуктивность и яйценоскость кур-несушек. Однако остаточные количества афлатоксина были обнаружены в их яйцах, что может негативно влиять на иммунитет потомства и повышать чувствительность к заболеваниям.

Афлатоксины могут продуцировать активные формы кислорода с помощью прямых или косвенных механизмов, вызывающих ферментативную активность, что является одной из серьезных проблем для здоровья животных. В результате перекисного окисления липидов, вызванного афлатоксинами наблюдаются отклонения в работе системы антиоксидантной защиты, которые вызванны уменьшением содержания в печени α-, γ-токоферола, каратиноидов и аскорбиновой кислоты. Важной реакцией афлатоксина на метаболизм каратиноидов является подавление процесса всасывания их слизистой оболочкой кишечника и угнетение сывороточного транспорта [182, 206, 237, 278].

1.3 Характеристика и биологическое действие витаминов

В организме животного протекают обменные процессы, на которые оказывает воздействие минеральный состав окружающей среды (почва, вода и растения). Эндемические недомогания образуются в результате избытка или недостатка одного, или нескольких минеральных элементов, витаминов, к тому же при нарушениях их соотношения в кормах и воде [138, 150].

К витаминам относят соединения органической природы, благодаря которым осуществляются жизненно важные функции и нормализуется обмен веществ. Витамины можно классифицировать в зависимости от растворимости или

физиологического действия, то есть от функции, выполняемой в клеточном обмене организма. В зависимости от первого показателя они подразделяются на растворимые в жирной среде (A, D, E и K) и водной (C и группы B) [109]. Различают витамины с биокаталитическим действием и витамины с индуктивным действием. Первые принимают участие в строительстве ферментов, также входят в их состав. Комплекс ферментов, который имеет белковую термолабильную часть – апофермент и термостабильную часть - кофермент, содержащий в своем составе, как правило, витамины и минеральные вещества, участвует в распаде питательных веществ, которые поступают в организм. Витамины комплекса B, кроме B4, и витамин K принадлежат к описываемой группе. Например, карбоксилаза содержит витамин B1 (тиамин), дегидрогеназа - B2 (рибофлавин), декарбоксилаза и трансамилаза - B6 (пиридоксин) и др. Регулирование клеточных структур и поддержание дифференциации тканей обуславливается витаминами с индуктивным действием, которые отличаются липотропным фактором – это витамины A, D, E, C и холин (витамин B4). Данные витамины действуют путем регулирования основных процессов биосинтеза [158, 168].

Большое содержание жиров в химусе обеспечивает нормальное усвоение жирорастворимых витаминов, которые откладываются в печени и жировых клетках. Стоит заметить, что водорастворимые витамины не накапливаются в организме, а, следовательно, их восполняют посредством кормов. Микрофлора желудочно-кишечного тракта синтезирует ряд витаминов [143]. У некоторых животных благодаря данному процессу необходимость в ряде витаминов удовлетворяется в полной мере, у других животных данный синтез не обеспечивает потребности организма в синтезируемых витаминах.

В растениях имеются предшественники отдельных витаминов - провитамины. В результате действия ряда ферментов эти природные соединения в организме с легкостью превращаются в витамины, например, каротины и витамин A, стерины и витамин D [127].

Основным источником витаминов для животных являются корма. Какие-то природные витамины, содержащиеся в кормах, разрушаются ещё на стадии

изготовления или в процессе хранения, другие переходят в трудноусвояемые формы, действие факторов внешней среды, всё это приводит к тому, что качество кормов ухудшается. К решению вопроса о витаминном питании необходимо подходить комплексно: заготавливать витаминные корма и вводить синтетические витаминные препараты в рационы животных [55, 138, 140].

Существует множество сбалансированных рационов по организации кормления продуктивных животных и птиц. Полезные вещества, содержащиеся в корме, компенсируют недостаток энергии, белка, углеводов, витаминов, микроэлементов, необходимых для роста молодняка, оказывает влияние на иммунный статус, приводит к увеличению продуктивности и качества получаемой продукции. Дефицит каких-либо питательных веществ в рационе приводит к негативным изменениям в физиологическом состоянии животных, что влечет за собой более низкий показатель продуктивности, при этом превышение от норм также сказывается на здоровье [56, 111, 129, 162, 165].

На усвояемость витаминов в организме оказывают влияние множество факторов, среди которых, физиологическое состояние желудочно-кишечного тракта, является наиболее значимым. Валошиным А.В. и соавт. (2017) отмечено, что заболевания пищеварительных органов негативно влияет на всасывание витаминов и отложение их в печени или иных органах животных. Таким образом, уровень витаминов, содержащихся в кормах и соответственно их активность в организме порой не совпадают. В работах Микулец Ю.И. (2015) и Микулец Ю.И., Харламова К.В. (2019) показано, что на усвояемость витаминов также влияют их совместимость, соотношение и взаимодействие между собой, биологическая доступность для организма и сбалансированность рационов животных по иным элементам питания. Эффективность использования тех или иных форм витаминов во многом зависит от их устойчивости и биодоступности, другими словами, от их способности прохождения через кишечный барьер, не изменяя своей структуры и оказания влияния на процессы обмена веществ. При поступлении витаминов в организм животных с питьевой водой или кормом, происходит моментальное их всасывание слизистой желудочно-кишечного тракта, поступление с током крови в

печень, распространение по организму и дальнейшее участие в обменных процессах. Однако при инъекциях распространение витаминов происходит по межтканевой жидкости между мышечных волокон и с током крови неспешное, на протяжении ряда дней рассасывание [20].

Поступая в организм животных, витамины способствуют правильному росту, нормальному процессу размножения, повышению продуктивности [50]. Витамины повышают общую устойчивость организма, резистентность к большому числу инфекционных заболеваний, укрепляют нервную, кровеносную, мышечную и другие системы [105].

Некоторые витамины входят в составную часть многих ферментов, выступающих в качестве катализатора превращений компонентов пищи в организме. Понижение активности соответствующих ферментов и обмена веществ, происходит в результате отсутствия или неполноценного по витаминам кормления, при котором отмечается потеря аппетита, слабость, задержка роста, истощение и заболевание специфичное для данной ситуации (авитаминозы) [47, 136, 140].

Различают следующие авитаминозы у животных: гипо-, гипер и эндогенные. Легкая форма витаминной недостаточности в кормах приводит к гиповитаминозам, а при наличии у животных хронических заболеваний, в результате плохого усваивания витаминов, развиваются эндогенные (внутренние) гиповитаминозы. Развитию гипервитаминозов способствует сильная передозировка витаминов, которая характекризуется расстройством обмена веществ и влечет за собой интоксикацию организма [5, 17, 133, 137, 166]. На практике звероводства частенько наблюдаются полигиповитаминозы. Это происходит в результате слишком малого наличия витаминов в кормовой смеси или их инактивирования другими веществами корма [8, 16, 43]. Витамины и минеральные вещества в определенном объеме каждый день необходимы организму животного.

Благодаря тому, что витамины являются составной частью коферментов, они обладают высокой биологической активностью. Святогоровым В.А. (2008) установлено, что если процедура превращения витаминов в коферменты в организме нарушается, то развивается витаминная недостаточность. Савинова

А.А., Еременко Л.М. (2021) сообщают, что одним из факторов, оказывающих влияние на образование витаминной недостаточности, являются антивитамины, которые близки по строению соответствующим витаминам, но оказывают противоположное действие. Какая - то часть вытесняет витамины из апофермента, но при этом не выполняет его функции, другая – меняет его структуру в результате расщепления молекулы или образует комплексы. Такие соединения имеются в кормах и их могут вырабатывать микроорганизмы [6, 115, 163]. Например, каротин разрушается под действием фермента липоксидаза, окситиамин ингибирует витамин В1 [6].

Проявление внешних признаков витаминной недостаточности довольно многообразно. В работах Кензина В.И. и соавт. (2020) и Омельченко Н.Н. (2018) установлено, что нехватка в организме животных и птиц того или иного витамина характеризуется отставанием в развитии, в росте, снижением привесов, ухудшением работы репродуктивной системы и далее, что в конечном итоге негативно отражается на продуктивности таких животных и, соотвественно, на качестве продуктов животноводства. Заболевания, связанные с витаминной недостаточностью у животных, в основном образуются или обостряются во время повышенной потребности в витаминах (рост, беременность и лактация). При усилении напряженности обмена веществ, в связи с увеличением продуктивности, повышается, и потребность в витаминах [163, 168].

Витамин А. С химической точки зрения витамин А это непредельный одноатомный спирт с химическим названием (2E,4E,6E,8E)-3,7-диметил-9-(2,6,6-триметилциклогекс-1-ен-1-ил)-нона-2,4,6,8-тетраен-1-ол [109, 127].

Раскрытию данного витамина в 1913 году способствовала работа пары групп исследователей Мак-Коллут-Девис и Осборн. Классификация буквы А в названии рассматриваемого вещества связана с историей его открытия, которая гласит, что он относится к числу первых открытых витаминов. В 1931г. швейцарский химик Пауль Каррер описал химическую структуру витамина. Г. Холмс и Р. Корбет кристаллизовали его в 1937г. В 1946г. Дорн и Аренс синтезировали витамин А. В 1947г. О. Ислер разработал промышленный метод его синтеза [262].

Для выражения величины обсуждаемого соединения применяют следующие единицы: интернациональные (ИЕ), международные (МЕ). Одна МЕ эквивалентна 0,3 мкг ретинола; 0,6 мкг β-каротина [127].

Известно, что растительные корма для животных и птиц содержат провитамин А. Данные соединения распадаются в тонком отделе КТ преобразуясь в ретинол [167]. Число провитаминов на сегодняшний день достигает более четырех десятков, в числе которых выделяют бета-каротин, из которого получается в два раза больше витамина А. Установлено, что из общего числа, поступившего в организм каротина, усваивается лишь одна четвертая часть, при этом только одна седьмая часть превращается в витамин А. Кузьминовой Е.В. и соавт. (2017) отмечено, что на повышение усвояемости бета-каротина оказывают влияние наличие витаминов Е и B_{12}.

Химические свойства витамина А: обладает хорошей растворимостью в жирной среде, трихлорметилене, гидроксисоединениях, в соединениях, содержащих эфирную группу и так далее. Ультрафиолетовые лучи, высокие температуры, также кислород оказывают разрушающее влияние на провитамин и сам витамин [17, 127]. К основным функциям бета-каротина, природного антиоксиданта, относят устойчивость организма к различным заболеваниям и также к раковым опухолям, сокращение возникновений сердечно-сосудистых заболеваний, воспалительных процессов слизистых оболочек, участие в иммунных реакциях, улучшение обмена энергии, повышение воспроизводительной функции. Антиоксидантные свойства каротинов выражаются в устранении клеточных трансформаций, пораждающихся перикисями, в инактивации токсического влияния ксенобиотиков благодаря нейтрализации свободных радикалов [255].

Некоторые микроорганизмы и растения синтезируют каротины, в то время как животные не обладают способностью к синтезу и получают каротины с кормом [71, 101, 245]. Обеспечить животных бета-каротином в зимне-стойловый период содержания практически невозможно, так как при хранении и заготовки кормов он быстро разрушается [19].

Местом резервирования каротина в организме является жировая ткань, витамина А – печень. Nan W.X. et al. (2021) сообщает, что метаболизм витамина А можно представить, как следующие процессы — всасывание в кишечнике, хранение в печени и транспортировка с кровью для удовлетворения физиологических потребностей организма.

Практически идентичны биологические функции витамина А и каротиноидов, можно сказать, они восполняют друг друга. В работе Таов И.Х. и соавт. (2019) отмечено, что витамин А и каротины способствуют нормальному функционированию иммунной системы, усиливая барьерную функцию слизистых оболочек, повышению фагоцитарной активности лейкоцитов и иных факторов неспецифического иммуннитета. Формирование слизи защитным слоем эпителиальных клеток происходит в результате проникновения инородных тел на слизистую оболочку дыхательных путей. С кашлем или при чихании слизь выводит эти тела наружу. Одним словом, витамин А предохраняет организм от прохождения инородных тел воздушным путем и соответственно уменьшает опасность инфекций системы дыхания.

Установлено их воздействие на воспроизводительную функцию, ввиду их участия в образовании полноценных половых клеток и синтезе стероидных гормонов [71, 77, 105].

Витамин А способствует нормальному росту животных. Много витамина А необходимо клеткам хрящевой ткани, которые обеспечивают рост костей в конечностях. Происходит рост молодых хрящевых клеток костей, которые со временем отмирают, оставляя место другим новым клеткам. Так, витамин А осуществляет контроль над ферментативным процессом для обеспечения круговорота клеток в костно-хрящевой ткани. Витамин А активизирует синтез коллагена, благодаря чему заживление поврежденных участков тканей убыстряется [31].

В работе Бессарабовой Б.Ф., Мельниковой И.И. (2006) отмечено, что витамин А оказывает влияние на белковый, серный, фосфорный и иные типы обмена, необходим для обеспечения здорового состояния слизистых оболочек, также

эпителиальных тканей. В экспериментах, проведенных Валошиным А.В. и соавт. (2020), показано, что введение в рацион бычков витамина А способствовало улучшению их физиологического состояния и также активизации обмена веществ. Пыхтина Л.А. и соавт. (2018) сообщают, что добавление в рационы молодняка крупного рогатого скота витамина А в комплексе с микроэлементами и ферментным препаратом улучшало состояние углеводно-жирового обмена, повышало качество мяса и способствовало лучшей переваримости. Уровень кортикостероидов зависит от поступления в организм витамина А, так при гиповитаминозе А их уровень повышается. Увеличение содержания холестерина в крови говорит об участии витамина А в жировом обмене.

Антиоксидантные свойства витамина А заключаются в том, что его молекула имеет две сопряженные кратные связи, по которым возможно образование связей со свбодными радикалами, включая радикалы кислорода. Любиной Е.Н. (2015) установлено, что витамин А оптимизирует антиоксидантный статус организма защищая клетки от повреждений в результате действия окислителей.

Большие дозы витамина А оказывают токсичное действие на организм, что может проявляться абортами, особенно у многоплодных животных. Длительное поступление высоких доз витамина приводит к дегенеративным изменениям внутренних органов (печень, почки), в единичных случаях – в ЦНС и костном мозге [93].

Профилактируют гиповитаминоз по витамину А путем введения в корма животных препаратов на основе ретинола, которые добавляют в рацион также чтобы усилить стойкость животных к заболеваниям инфекционной этиологии. В качестве добавок применяют и синтетический витамин А, который содержит трансизомер и малый процент неовитамина А. Преимуществом такого препарата является стойкость, в случаях комбинирования с иными витаминами он практически не инактивируется. В тех случаях, когда витамин А с кормом использовать затруднительно, его вводят в организм внутримышечно. Плюсом инъекций считается, что ретинол не будет разрушаться при действии микробов рубца или нитритов [93]. Известно, что клинические признаки характерные для

гиповитаминоза А проявляются при уменьшении уровня витамина А в крови ниже 10 мкг/% или печени ниже 50 мкг/г.

Гиповитаминоз А является одним из рапространенных заболеваний животных всех видов, которое возникает в результате недостаточного поступления в организм витамина А или его провитамина – каротина. Такая ситуация может возникнуть при схожем типе кормления в который сопровождается нехваткой сена, травяной резки, сенажа, силоса и так далее, высококачественных кормов, обильных по содержанию витамина А и каротина [7, 14, 15, 21, 108, 160]. Меньшиков В.В. (2002) и Кондрахин И.П. (2004) отмечают, что при заболеваниях печени (гепатит, цирроз), воспалениях желудка и тонкой кишки, также инфекционных и инвазионных заболеваниях есть возможность возникновения эндогенного А – гиповитаминоза.

Установлено, что недостаточное поступление витамина А в организм приводит к замедлению роста, подавляет антиоксидантные и пищевые способности, функцию кишечного иммунитета. Куриная слепота - это заболевание, возникающее при нехватки данного витамина и характеризующееся резким ухудшением остроты зрения в темное время суток. Этому способствует понижение регенерации зрительного пурпура, впоследствии образуется ксерофтальмия, затем формируется кератомаляция (мутность и умягчение роговицы глаза). К основным признакам гиповитаминоза А относят образование ороговевших клеток в тканях эпителия дыхательных путей, пищеварительного канала, родовых путях, что уменьшает ее устойчивость для прохождения возбудителей инфекционных заболеваний [17, 30, 36, 133, 159, 213, 275].

В исследованиях Kozakova H. и соавт. (2003) показано, что недостаток витамина А приводит к нарушениям функций ферментов в эпителиальной ткани кишечника, вызывая дисбиоз у крыс. Бушмакиной И.М. и соавт. (2020) установлено, что гиповитаминозное состояние по витамину А приводит к уменьшению активности лизоцима, интерферона, что в свою очередь облегчает путь развития инфекций и воспалений.

Наблюдаются отклонения и в нервной системе при недостаточном поступлении витамина А при котором сбивается координация движений, появляются судороги, паралич, слабость в мышцах и иное.

Все вышеперечисленные признаки изменяются в соответствии от вида животного, его индивидуальных особенностей и уровня нехватки витамина А в организме. К примеру, у коров гиповитаминоз А может вызывать затруднительные отелы, у лошадей наблюдаются отклонения от норм в формировании копытного рога [168].

Гипервитаминозное состояние по витамину А обнаруживается у животных очень редко, это связано с тем что для развития такого состояния требуются чрезвычайно высокие дозы, что в жизни практически неосуществимо.

1.4 Способы снижения негативного действия микотоксинов

Установлено, что микотоксины выявляются не только в кормах, продовольственном сырье или пищевых продуктах, они могут быть обнаружены и в питании, предназначенном для детей. Полностью исключить контаминацию кормовой и пищевой продукции афлатоксинами нереально. Методы, направленные на идентификацию и снижение микотоксинов расширяются, создаются препараты, обладающие профилактическими свойствами при микотоксикозах.

Поиск факторов, модифицирующих биологическую активность афлатоксинов, является одним из возможных путей защиты организма от неблагоприятных воздействий этих агентов. Наиболее эффективными в этом плане являются факторы питания, способные существенно изменять токсические и канцерогенные свойства афлатоксинов [156]. К таким факторам следует отнести аминокислотные полимеры (протеины), соединения углерода и воды, триглицериды, витамины, микроэлементы [258, 272, 277].

Ghadiri S. et al. (2019) сообщает, что ряд природных антиоксидантов обладает способностью защищать организм животных от токсичного действия афлатоксина.

Известно, что ряд соединений класса хинонов (антрахиноны), растительных полифенолов (флавоноиды) и гетероциклических соединений (кумарины) могут подавлять метаболическую активность обсуждаемого микотоксина. В исследованиях Lee S. et al. (2001) на печени цыплят показано, что диферулоилметан (куркумин) также обладает ингибирующим действием на процесс метаболизма афлатоксина B1. Авторы объясняют это присутствием в молекуле диферулоилметана двух кетоновых групп.

В исследованиях Armanini E.H. et al. (2021) и García-Pérez O.D. (2020) показана эффективность применения куркумина для предотвращения или уменьшения афлатоксикоза у сельскохозяйственных животных.

В экспериментах El-Sheshtawy S.M. et al. (2021) установленна эффективность применения ликопина и силимарина, обладающих мощной антиоксидантной активностью при афлатоксикозе утят.

Имеются данные о терапии сочетанного микотоксикоза (Т-2 токсин, афлатоксин, зеараленон) птиц препаратом природного происхождения на основе свекловичного жома и рапсового лецитина [178].

Авторами [278] отмечено, что водорастворимые вещества пшеницы являются потенциальным средством предотвращения повреждения, вызванного афлаткосином в печени бройлеров.

В исследованиях Ulaiwi A.H. (2018) отмечено, что добавление в рацион цыплят-бройлеров витамина Е и селена предотвратило негативное влияние афлатоксина за счет антиоксидантного эффекта.

Aboobeker V. et al. (1997) утверждает, что стереоизомер витамина А – 3-дегидроретинол, также его соединение в виде сложного эфира с пальмитиновой кислотой – 3-дегидроретинилпальмитат ингибируют образование ДНК-аддуктов, вызванных действием афлатоксина B1. При этом заслуживает внимания факт влияния на метаболические процессы афлатоксина в организме витамина А, активность которого определяется состоянием живого организма, наличием или отсутствием болезненных процессов, возраста, количества, длительности введения.

В опытах in vitro было показано, что ретинол подавлял пропорционально его концентрации мутагенную активность афлатоксина B1 [202]. Заслуживают внимания данные об усиление антикоагулянтного действия этого токсина у крыс, морских свинок и кроликов при недостаточности витамина А, а дополнительное внутримышечное введение ретинола телятам уменьшало степень коагулопатии, вызванной афлатоксином B1 [195]. У крыс, содержавшихся в течение 9 недель на дефицитном по витамину А рационе, однократное введение смеси афлатоксинов B_1, B_2, G_1, G_2 в дозе 3,5 мг/кг приводило к гибели всех животных, в то время как на полноценном рационе при той же дозе афлатоксинов все животные выживали [260]. При длительном введении афлатоксина B_1 с кормом на фоне недостаточности витамина А в рационе, частота возникновения опухолей печени у крыс не отличалась от таковой у особей, получавших полноценный рацион. Но при этом, на фоне недостаточности витамина А, в несколько раз возрастала частота опухолей толстой кишки. Избыток витамина А в рационе не оказывал какого-либо влияния на канцерогенную активность афлатоксина [254]. Наряду с этим имеются данные об усилении токсического действия афлатоксина B_1 у цыплят как при недостаточности, так и при избытке витамина А [201].

Рабинович М.И. (2002) считает, что адсорбирующие материалы, которые применяют в составе комбикормов – практичный и надежный метод предупреждения заболеваний, вызванных микотоксинами. О профилактике микотоксикозов с применением сорбентов сообщает и Былгаева А.А. (2018). Guo H. et al. (2021) установлено, что прменение комплекса пробиотиков в сочетании с монтмориллонитом повышали показатели роста и уменьшали остаточные количества афлатоксина B1 в сыворотке крови, печени и экскрементах цыплят-бройлеров. В исследованиях Бородулиной В.И. (2020) показано, что введение в рацион свиней и птиц адсорбента микотоксинов стабилизировало обменные процессы, снижало интоксикацию организма и нормализовало функционирование печени и почек. Абдулхаликов Р.З. и соавт. (2018) отметили о целесообразности включения в рацион цыплят-бройлеров смеси препаратов на основе антиоксиданта и бентонита для снижения риска афлатоксикоза.

Папуниди К.Х. и соавт. (2018), Танасева С.А. и соавт. (2021), Тарасова Е.Ю. и соавт. (2021), Olivera M.S. et al. (2021), Pate R.T. et al. (2018) сообщают, что адсорбенты обладают способностью связывать токсины в желудочно-кишечном тракте, препятствуя тем самым их всасыванию и дальнейшему проникновению в органы и ткани. Образуя прочные комплесы с токсинами в ЖКТ, они выводятся с фекалиями, что не допускает или сводит к минимуму действие токсинов на организм. По мнению исследователей Энговатова В.Ф. и соавт. (2015) помимо удобства в использовании энтеросорбция считается физиологичным методом, который не нуждается в существенных материальных затратах.

Принцип лечебного действия энтеросорбентов может быть прямой или опосредованный. Прямой принцип работы сводится к сорбированию токсинов, ксенобиотиков, микроорганизмов, веществ, которые принимают участие в гепато- и гемоэнтеральной циркуляции, также веществ, которые образуются в кишечнике во время гидролиза пищи, связыванию газов, налаживанию консистенции химуса и стимулированию функциональной активности органов пищеварительной системы. В результате опосредованного действия уменьшаются токсические и аллергических эффекты, обеспечивается профилактика экотоксикозов, достигается функциональная разгрузка органов, участвующих в процессе детоксикации, наблюдаются предотвращение дисбактериоза и метиоризма, увеличивается продуктивность [33, 34, 66, 67, 94].

В трудах Иванова А.В. и соавт. (2008) сообщается, что сорбирующие вещества делят на: 1) неорганические природные и синтетические; 2) органические растительной природы или микробной; 3) комбинированные, совмещающие в себе, как неорганические, так и органические компоненты.

По причине того, что физико-химические свойства микотоксинов довольно различны не существует одного эффективного метода для борьбы с ними. Поведение органических и неорганических сорбентов зависит от физических свойств (полярности, растворимости, размера, формы) молекул микотоксинов. В результате различной природы сорбентов их влияние на микотоксины отличаются. Количество сорбента, вводимого в корм, зависит от степени пораженности корма и

адсорбционной емкости адсорбента. К преимуществам сорбентов относятся возможность действовать в широком диапазоне pH и необратимость связывания токсинов [231]. Имеются данные, что сродство микотоксина к адсорбенту может быть увеличино, если корме наблюдается высокое содержание клетчатки [224].

Структура цеолитов представляет собой кристаллическую решетку, в которой содержатся ионы и молекулы воды. Colella C. (2007) отмечено, что непрочная связь молекул воды и ионов обуславливает ионный обмен и обратимую дегидратацию, благодаря чему токсичные молекулы, имеющие положительный заряд встают на их место в структуре цеолита. Химичекий состав цеолитов подробно описан в работе Алиева А.А. и соавт. (2017), где он представлен окисью кремния, алюминия и кальция, а также более сорока минеральными элементами (калий, натрий, магний, железо и т.д.).

Цеолит начинает действовать в желудочно-кишечном тракте поглащая токсичные соединения, поступающие в организм с кормом, и выступает в качестве донора минеральных элементов, которые находятся в порах кристаллической решетки. Выводится цеолит из организма полностью со стулом, мочой или потом. [70, 171].

Природные цеолиты привлекают внимание многих исследователей благодаря своей уникальной сорбционной и ионообменной активности, молекулярно-ситовым и каталитическим свойствам [28, 32, 59, 79, 176].

О применении бентонитовых глин, цеолитов, силикатов, торфа и т. д. для профилактики и лечения животных известно издавна. Исследования многих ученых, таких как Ребезова М.Д. и соавт. (2002); Кузнецова С.Г. (1993); Шадрина А.М. и соавт. (2008); Атнагуловой Э.М. (2020); Мишиной Н.Н. и соавт. (2020); Обрадо Барилл Ч. и соавт. (2019); Сальниковой М.М. и соавт. (2020); Танасевой С.А. и соавт. (2020); Тарасовой Е.Ю. и соавт. (2021) показывают, что применение различных цеолитов может благополучно уменьшать токсический эффект, вызванный микотоксинами.

Капитонова Е.А. (2020) сообщает о получении доброкачественного мяса при экспериментальном микотоксикозе на фоне кормления цыплят-бройлеров

адсорбентом «Токсфин». Ивановым А.В. и соавт. (2015) установлено, что введение в рацион свиней природного минерала Шантрашита, добываемого из Татарско-Шатрашанского (Республика Татарстан) месторождения и минерала Воднита, добываемого из Воднинского (Самарская область) месторождения оказывало благоприятное воздействие на организ, Ленковой Т.Н. и соавт. (2019) отмечено положительное влияние цеолита на продуктивность птиц. На увеличение продуктивности молодняка КРС, свиней и птиц, улучшение перевариваемости пищи указывают данные, полученные Лаврентьевым А.Ю. и соавт. (2018), которые изучали рационы с цеолитсодержащими добавками.

Исследования, проведенные на беременных крысах Попп Е.А. и соавт. (2019) выявили протективные свойства цеолитов при эндотоксикозе, которые проявлялись в быстрой элиминации токсических соединений, а, следовательно, минимальному повреждению плаценты.

Положительное влияние цеолита и шунгита показано в исследованиях Танасевой С.А. и соавт. (2020) при сочетанном микотоксикозе на цыплятах-бройлерах. Скармливание цыплятам органоминерального сорбента цеогумит и цеолита сахаптина показало высокий эффект при микотоксикозе [172]. В результате исследований, проведенных Донченко О.А. и соавт. (2015) установлено, что добавление в корма природного цеолита сахаптина профилактировало микотоксикоз у цыплят. По данным Резниченко Л.В. и соавт. (2019) применение кормовой добавки карбитокс, содержащей цеолит, при искусственно вызванном микотоксикозе у цыплят привело к ослаблению отрицательного влияния микотоксинов.

Ребезовым М.Б. и соавт. (2002) отмечена хорошая сорбционная активность цеолитов в отношении ксенобиотиков. Данные полученные Бикташевым Р.У. (2019) указывают на позитивный эффект при введении в рацион цыплят-бройлеров сорбентов шунгита и цеолита.

Во всех представленных исследованиях, где использовали в качестве сорбента цеолитсодержащие добавки не выявлено несоответствий от норм в отношении качества мяса или молока.

Вертипраховым В.Г. (2004) отмечено, что цеолиты обладают рядом благоприятных воздействий на функции пищеварительного тракта, у них обнаруживают бактерицидные свойства, они подавляют развитие брожения и гниения.

Таким образом, отсутствует единое мнение о влиянии рациона с дополнительным содержанием ретинола на токсичность афлатоксина, а также нет литературных данных об эффективности применения ретинола, как средства для профилактики отравлений вызванных афлатоксином. Не изученым остается сочетанное влияние цеолита и ретинола на организм животных, подвергшихся негативному воздействию афлатоксина. Отсутствуют данные о ветеринарносанитарных показателях мяса животных при микотоксин-афлатоксикозе и без на фоне сочетанного влияния цеолита и ретинола. Все вышеизложенное послужило основанием для изучения влияния витамина А на организм животных при воздействии афлатоксина.

1.5 Методы определения витамина А

Диагностирование гиповитаминоза А проводят путем установления уровня витамина в крови, молозиве, молоке и иных тканях животных. Методы, применяемые для определения количества витамина А в биологических субстрактах включают колориметрические, спектрофотометрические, флуориметрические, хроматографические. На выбор метода оказывают влияние такие факторы как химические свойства аналита, уровень витамина, цель исследования, также характер фоновых мешающих компонентов экстракта. Виду сложности исполнения методов непосредственное установление количества витаминов в крови или иных биологических субстрактах осуществляется изредка [61, 181, 205, 265].

Точно определить уровень жирорастворимых витаминов – задача достаточно сложная. Затруднения создают структурные свойства молекул жирорастворимых

витаминов и их метаболитов, наличие большого количества неорганических солей, белков и липидов в биологических образцах, наличие стандартных материалов, эталонных методов измерения. Молекулы жирорастворимых витаминов достаточно маленькие и их содержание в крови относительно низкое и изменчивое. Следует отметить, что отсутствует информация о стабильности витаминов, особенно А, в крови. Ряд витаминов склонны поглощать оптическое излучение какой-то определенной части спектра, например, для витамина А 328-330 нм [210, 264].

Для установления содержания витамина А в биологических образцах в лабораторной практике ведущее место занимают экспресс методы, среди которых первенство принадлежит методу ИФА совместно с микробиологией. Где основа определения количества витамина состоит в установлении величины скорости роста бактерий, которая напрямую зависит от количества витамина в испытуемых образцах. Такой метод не нуждается в продолжительной пробоподготовки образца и обеспеченности сложными инструментами [140].

К недостаткам иммуноанализа относят проблемы с точностью, которая возникает вследствии низкой селективности и чувствительности антител, которые связывают небольшие молекулы витаминов с более крупными молекулами белка в матрице сыворотки [210].

Химические свойства жирорастворимых витаминов создают дополнительные трудности и ошибки, как в процессе подготовке образцов исследования, связанные, к примеру, со сменой применяемого растворителя или стадией экстрации, так и во время их анализа. Основное внимание во время процесса экстракции обращают на способность растворителя смачивать исследуемую пробу и проходить в его толщу [197]. Изучая литературные данные по данному вопросу установили, что не существует одной единой комбинации для проведения обработки исследуемых проб и определения уровня ЖВ.

Ранее витамин А определяли колориметрическим методом. Суть метода заключалась в экстракции масла хлороформом с применением различных реагентов, дающих цветные реакции и дальнейшем измерении интенсивности

цвета. Были выделены основные принципы для количественной оценки витамина А: количество взятого масла и используемых реактивов должно быть точно измерено; интенсивность цвета должна быть измерена в сравнении со стандартом; получившийся цвет должен быть достаточно стабилен, чтобы измерить его в течение определенного времени. Проверены следующие реагенты: трихлорид сурьмы, тетрахлорид олова, безводный трихлорид железа, безводный хлорид алюминия, тетрахлорид кремния, оксихлорид фосфора. Наиболее подходящим и удобным оказался 30% раствор трихлорид сурьмы в хлороформе. К преимуществам его использования относятся: цвет является интенсивно синим и более постоянным, он дает ту же самую интенсивность цвета с тем же самым количеством масла в каждом случае; нет необходимости чтобы масло или растворы были слишком сухими или не содержащими спирт (во многих тестах вода и спирт перекрываются, цвет разбавляется).

Позднее был описан колориметрический метод определения витамина А с помощью трифторуксусной кислоты. В нем предлагалось осаждать белки плазмы этанолом, проводить экстракцию гексаном или петролейным эфиром, а после выпаривания растворителя использовать хлороформ и определять интенсивность синего цвета после добавления трифторуксусной кислоты на колориметре или спектрофотометре с приспособленными для этого кюветами. При использовании данного метода определения витамина необходимо очищать смесь от каратиноидов с помощью алюминиевой колонки или делать поправку на содержание каратиноидов, так как они вносят вклад на содержание синего цвета. Когда уровень витамина А в плазме низкий, а концентрация каратиноидов высокая, то содержание витамина А будет определено неверно [200].

Флюорометрический метод определения витаминов. Здесь описывается экстракция плазмы с помощью этанола и гексана. Показание флуоресценции снимается при 480 нм при возбуждении длинами волн 330 и 365 нм. На основе величины флуоресценции, полученной для стандарта ретинола и очищенного фитофлюэна, который является главным флуоресцирующим веществом, обнаруженным в плазме наряду с ретинолом, концентрация витамина А

рассчитывается с помощью формулы, в которую внесена поправка на присутствие фитофлюэна [226].

Спектрофотометрический метод определения витамина А с применением ультрафиолетового света. Метод основан на разрушении ретинола при облучении УФ светом. После омыления плазмы с помощью спиртового раствора щелочи (КОН), ретинол и каратиноиды экстрагируются смесью кселенокеразина. Оптическая плотность экстракта снимается при 460 нм для определения общего количества каратиноидов и при 328 нм для ретинола. Затем экстракт облучается УФ, чтобы разрушить ретинол и снова его поглощение снимается при 328нм. Разница в оптической плотности при 328 нм до и после облучения образца УФ пропорциональна концентрации ретинола. Концентрация каратиноидов и ретинола рассчитывается с помощью поглощения относительных коэффициентов экстинкции [193].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) является одним из самых популярных методов определения жирорастворимых витаминов [251, 263, 266]. Принцип метода определения витамина А с помощью ВЭЖХ заключается в следующем. Некий объем плазмы или сыворотки разбавляется этанолом или метанолом, который денатурирует плазменные белки, витамин А экстрагируется подходящим органическим растворителем. После центрифугирования порция органической фазы наносится на прямо-фазную или обращенно-фазную колонку. Для рутинного анализа применяют, как правило, обращенно-фазную колонку C_{18}. Ретинол, который выходит в пределах 1-7 минут регистрируется с помощью чувствительного УФ, диодно-матричного (DAD) или флуориметрического детектора. Количество ретинола рассчитывается по высоте или площади пика относительно внутреннего стандарта ретинол ацетата или другого подходящего аналога или методом абсолютной калибровки [51, 180, 244, 267].

Для извлечения ЖВ из сложных матриц довольно часто применяют щелочно-гидролизное омыление или так называемую стадию сапонификации, которая необходима для наиболее полного разрушения матрицы исследуемого образца, как, правило содержащей белки, нуклеиновые кислоты и далее, одним словом

природные полимеры, что в свою очередь способствует усилению доступности ЖВ для следующей стадии, в основном экстрации. Существует несколько разновидностей щелочно-гидролизного омыления в зависимости от матрицы исследуемого объекта, а также свойств ЖВ [197]. Среди многих методов определения витамина А, только в некоторых включен процесс сапонификации. По утверждениям Hosotani и Kitagawa выход ретинола был выше на 20% после применения этого процесса. Однако для ингибирования окисления витамина на стадии щелочно-гидролизного омыления требуется введение антиоксиданта, среди которых отдают предпочтение аскорбиновой кислоте или ее соли, бутилгидрокситолуолу или трехатомному фенолу. Hosotani и Kitagawa использовали в качестве антиоксиданта гидрокситолуол, добавляя его к этанолу или гексану во время экстракции плазмы [230].

Согласно физическим свойствам витамина А, ввиду его неустойчивости, на стадии пробоподготовки и при его определении нельзя не учитывать особенное обращение с ним. Важно знать, что разрушающее действие на обсуждаемый витамин оказывает воздух, при этом синергетически влияют на это существование ионов железа и магния, также высокие температуры (нагрев). Освещенность солнечными лучами является еще одним губительным фактором для данного витамина, меняя структуру его соединения. Наиболее опасным считается воздействие ультрафиолетовых лучей длина волны, которых не превышает 345 нм. В лабораторной практике растворы витамина А необходимо держать во флаконах из темного стекла, защищая растворы и от искусственного освещения. Для полноты извлечения обсуждаемого витамина из биоматериала необходимо блокировать протеины, основные компоненты матрицы. Как правило, этот процесс осуществляют с применением гидроксисоединений (спиртов). При этом их количество должно быть равным по соотношению. Наиболее признанным растворителем в экстракции ретиноидов является гексан [239, 273].

Вышеизложенное явилось основанием для выполнения настоящей работы в ходе которой были решены поставленные задачи.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» по заданию «токсикологическая безопасность» (номер регистрации 01200202603). Исследования выполнены в лаборатории физико-химического и прецизионного анализа отделения токсикологии, результаты апробированы на поросятах КФХ «Рыжов Ю.П.» Пестречинского района Республики Татарстан в период с 2019-2023 гг.

Объектом изучения являлись 36 кроликов породы Шиншилла, 60 поросята белой крупной породы, 346 образцов зерновых культур, 273 образца комбикорма, 18 образцов почвы и 6 образцов поверхностных вод. Предметом изучения диссертационной работы был биоматериал подопытных животных (кровь и её сыворотка, также паренхиматозные внутренние органы).

Формирование групп осуществляли по принципу аналогов с учетом физиологического состояния, породы, возраста, массы тела животного.

При экспериментальном афлатоксикозе для затравки лабораторных животных использовали афлатоксин В1 кристаллической формы производства Sigma-Aldrich (США). При проведении эксперимента в условиях хозяйства животные получали корм естественно зараженный афлатоксином В1 в количестве 150 мкг/кг.

В качестве средства профилактики при афлатоксикозе применяли 3,44% масляный раствор ретинола ацетата и цеолит Татарско-Шатрашанского месторождения Республики Татарстан, представляющий собой кристаллический пористый алюмосиликат на основе клиноптилолита (62%).

Афлатоксин В1 вводили в рацион лабораторных (кролики) животных путем тщательного перемешивания и добавления в корм, либо в виде водных растворов внутрижелудочно при помощи атравматического зонда. Препарат ретинола ацетата животные опытных групп (кролики и поросята) ежедневно получали

дополнительно к основному рациону. Цеолит давали животным в хлебных болюсах из расчета 2% от рациона.

Перед постановкой опыта животных выдерживали на карантине в течение 2-х недель.

В ходе проведения опыта изучали клиническое состояние животных, потребление корма и питьевой воды, состояние кожного и волосяного покрова, регистрировали изменение массы тела, гематологический и биохимический статус, значения неспецифической резистентности и ветеринарно-санитарные показатели. Взятие крови осуществляли: из краевой ушной вены – у кроликов, из хвостовой вены – у поросят.

Регистрацию температуры и относительной влажности воздуха экспериментальных помещений осуществляли с помощью комбинированного прибора «ТКА-ПКМ» (модель 42); скорость движения воздуха в помещении отслеживали термоанемометром «ТКА-ПКМ» (модель 50). Концентрацию вредных газов (аммиак и сероводород) устанавливали газоанализатором УГ-2; углекислого газа – методом Гесса.

Определение количества эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина проводили с использованием гематологического анализатора «Mythic 18-Vet» (Франция).

Содержание общего белка определяли рефрактометрическим методом, количественное соотношение белковых фракций – нефелометрическим, на КФК-2 при красном светофильтре по Б.И. Антонову и соавт. (1991) и И.П. Кондрахину (2004). Активность ферментов аспартатаминотрансферразы (АСТ), аланинаминотрансферразы (АЛТ), количество глюкозы определяли с помощью биохимического анализатора «Microlab 300- Vet» (Нидерланды).

Изучение показателей фагоцитоза проводили согласно С.А. Кост и М.И. Стенко (1974). По методу В.Г. Дорофейчука (1968) устанавливали лизоцимную активность.

Через 24 ч после убоя животных были проведены исследования мяса. Мясо хранили в холодильнике при (4±2) °С. Органолептические показатели устанавливали в соответствии с ГОСТ 7269-2015. Химические и микроскопические

анализы мяса проводили на основании ГОСТ 23392-2016 при этом учитывали показатели pH, реакцию на пероксидазу, реакцию с сернокислой медью, аммино-аммиачный азот и микроскопию мазков.

Остаточные количества афлатоксина B1 устанавливали методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием. Экстракцию афлатоксина B1 осуществляли по следующему разработанному способу. Гомогенизированный патматериал массой 10 г взвешивали с записью результата до второго десятичного знака, помещали в стеклянную виалу вместимостью 50 см^3, добавляли 2 мл 20% лимонной кислоты, закрывали виалу и тщательно перемешивали. Токсин экстрагировали 15 мл дихлорметана, смесь помещали в ультразвуковую баню на 10 минут и хорошо встряхивали на шейкере 20 минут. Процедуру экстракции проводили дважды. При этом продолжительность встряхивания сокращали до 15 минут. Объединенные экстракты собирали и пропускали через бумажный складчатый фильтр. Воду удаляли добавлением 5 г безводного сульфата натрия и экстракт фильтровали во второй раз. Фильтрат выпаривали досуха с помощью ротационного испарителя при температуре 40 °C. Для очистки высушенный экстракт перерастворяли в 3 мл смеси метанол : вода в соотношении (8:2).

Очистку с применением твердофазной экстракции осуществляли на картридже Oasis HLB (6 мл). Картридж предварительно кондиционировали 5 мл метанола, 5 мл дистиллированной воды последовательно.

Перерастворенный экстракт загружали в очистной картридж, элюировали 6 мл метанола. Очищенный экстракт концентрировали в токе азота при комнатной температуре.

К высушенному экстракту афлатоксинов добавляли 800 мкл 10% ацетонитрила и 200 мкл трифторуксусной кислоты и энергично перемешивали на шейкере в течение 5 минут, инкубировали при температуре 60 °C в течение 10 минут и центрифугировали 5 минут при 1000 об/мин. Супернатант отбирали и использовали для ВЭЖХ-ФЛД анализа.

Условия хроматографирования. Хроматографическое разделение было выполнено в изократичном режиме. Подвижная фаза представляла собой

следующую комбинацию: вода / метанол / ацетонитрил (60:20:20 по объему). Температура термостата колонки составляла 30 °С. Объем вводимой пробы 20 мкл при скорости потока элюента 1,0 мл/мин. Детекцию афлатоксина проводили при длинах волн возбуждения и регистрации флуоресценции 360 и 440 нм, соответственно.

Эффективность пробоподготовки определяли по степени извлечения афлатоксина из исследуемых образцов согласно методу Сальниковой Е.В., Осиповой Е.А. (2019). Концентрацию афлатоксина В1 в анализируемой пробе (мкг/г) вычисляли по формуле:

$$x = (C * V) : (P * K) \quad (1)$$

где – С – концентрация, вычисленная программой по калибровочному графику, (мкг/мл); V – объем анализируемого экстракта, (мл); Р – масса анализируемой пробы, (г); К – коэффициент извлечения афлатоксина из пробы.

Содержание витамина А в сыворотке крови определяли по модифицированному нами методу описанному K. Hosotani, M. Kitagawa (2003). Схема экстракции из сыворотки крови и печени представлена на рисунках 1 и 2.

Рисунок 1 – Схема экстракции витамина А из сыворотки крови

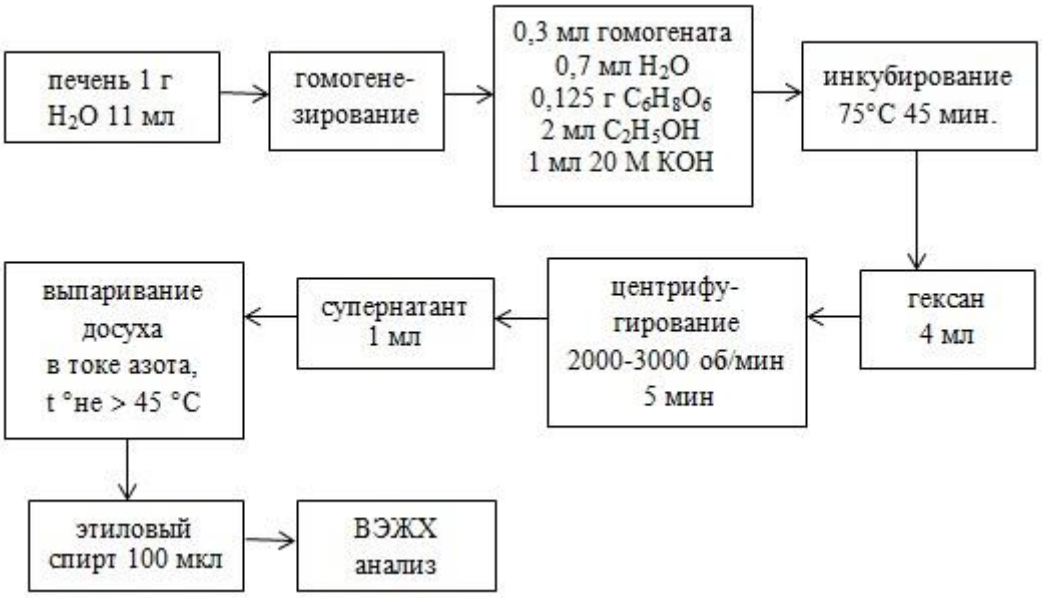

Рисунок 2 – Схема экстракции витамина А из печени

Использовали следующее оборудование и реактивы: хроматограф жидкостной Agilent 1100 Infinity, состоящий из дегазатора, четырехканального насоса, автосамплера, термостата колонки, диодно-матричного и флуориметрического детектора; колонка хроматографическая Reprosil ODS-A C18 (5 мкм, 250 × 4 мм); гомогенизатор роторный; центрифуга типа MPW-310; пластиковые микропробирки типа Эппендорф; устройство для перемешивания проб (шейкер), обеспечивающее частоту встряхивания до 120 мин $^{-1}$; камера вакуумная для твердофазной экстракции; картридж для твердофазной экстракции с обращено-фазовым сорбентом, (V=6 см^3); стандарт ретинола (Sigma); ацетонитрил (HPLC); диметилкарбинол х.ч. по ТУ 2632-181-44493179-2014 (Экос–1); метилкарбинол ректификованный; калия гидроокись по ГОСТ 24363-80 (ЛенРеактив); гексан х.ч. по ТУ 2631-158-44493179-13 (Химмед); аскорбиновая кислота (Supelko); вода дистиллированная по ГОСТ 6709; ацетон ч. или о.с.ч. по ГОСТ 2603-79 (Экос–1); дихлорметан по ГОСТ 9968-86 (Экос–1); кислота лимонная моногидрат пищевая, высшего сорта по ГОСТ 908-2004; стандартный раствор афлатоксина В1 (Sigma)**;** трифторуксусная кислота по ТУ 6-09-3877; натрий сернокислый по ГОСТ 4166-76, (ЛенРеактив); метанол (HPLC).

Исследовано 18 проб почвы, собранной с полей из-под подсолнечника, картофеля, пшеницы, гороха, ячменя и кукурузы; 6 образцов природных поверхностных вод, находящихся на небольшом расстоянии от сельскохозяйственных угодий; 346 образцов зерновых культур. Образцы почвы и зерновых культур были отобраны в Пестречинском, Высокогорском, Лаишевском, Алексеевском, Зеленодольском, Верхнеуслонском районах. Образцы воды были взяты из следующих водоёмов: река Бува и Кубня (Зеленодольский район); река Мёша и Брысса (Лаишевский район); река Меминка и Кашерша (Верхнеуслонский район). Проанализировали 273 образца комбикорма, поступивших в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» из различных районов Республики Татарстан (Арский, Сабинский, Мамадышский, Чистопольский, Новошешминский, Черемшанский, Альметьевский, Заинский, Сармановский, Ютазинский, Бугульминский, Нурлатский, Буинский, Лаишевский, Верхнеуслонский, Зеленодоский и Высокогорский районы). Пестициды класса четвертичных аммониевых соединений определяли с помощью жидкостной хроматографии по методу [104], хлор и фосфорорганические пестициды, синтетические пиретроиды и неоникотиноиды по методу [249].

Обработку данных, полученных экспериментальным путем, проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту с использованием специальных программ. Разница между сравниваемыми величинами считалась достоверной при уровнях р меньше или равной 0,05.

2.2 Результаты собственных исследований

2.2.1 Исследование уровня загрязнения объектов окружающей среды, зерновых культур и кормов пестицидами и микотоксинами

Известно, что наиболее распространенными загрязнителями мясной продукции химической природы являются пестициды, которые часто применяются в качестве средств защиты растений, и микотоксины – контаминанты растительного сырья естественного происхождения. Поэтому на первом этапе исследований проведен анализ образцов почвы, поверхностных вод, зерновых культур и кормов для сельскохозяйственных животных для установления уровня их загрязнения пестицидами и микотоксинами.

В ходе проведенного исследования установлено, что в образцах почв из-под сельхозкультур (подсолнечник, пшеница, картофель) обнаружен дикват (Табл. 1). При этом отмечено, что в одном из представленных на исследование образце содержание обсуждаемого дипиридилиевого десиканта было выше МДУ на 25%.

Таблица 1 - Результаты определения пестицидов и микотоксинов в образцах почвы и зерновых культурах

Объект исследования	Обнаруженное соединение	Количественное содержание, $(\bar{x} \pm \delta\bar{x})$, мг/кг	МДУ, мг/кг
1	2	3	4
Почва			
Образец № 3 (подсолнечник)	дикват	0.11±0.03	0.2
Образец № 4 (подсолнечник)	дикват	0.25±0.02	0.2
Образец № 7 (пшеница)	дикват	0.18±0.02	0.2
Образец № 16 (картофель)	дикват	0.13±0.03	0.2
Зерновые культуры			
Образец №7 (ячмень)	тебуконазол, зеараленон	$(0.90 \pm 0.03)\cdot10^{-1}$ $(0.11 \pm 0.02)\cdot10^{-1}$	0.2 0.2

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Образец №12 (кукуруза)	Т-2 токсин	$(0.51 \pm 0.02)\cdot 10^{-2}$	0.1
Образец №42 (кукуруза)	циперметрин	$(0.13 \pm 0.04)\ 10^{-2}$	0.05
Образец №57 (пшеница)	дезоксиниваленол зеараленон	$(0.60 \pm 0.05)\cdot 10^{-2}$ $(0.84 \pm 0.04)\cdot 10^{-2}$	0.7 0.2
Образец №73 (пшеница)	хлорпирифос зеараленон	$(0.22 \pm 0.04)\ 10^{-1}$ менее ПКО	0.5 0.2
Образец №75 (кукуруза)	тиаметоксам афлатоксин В1	$(0.81 \pm 0.02)\ 10^{-3}$ $(0.32 \pm 0.05)\ 10^{-3}$	0.05 0.005
Образец №109 (рожь)	циперметрин охратоксин А	$(0.80 \pm 0.05)\ 10^{-1}$ $(0.43 \pm 0.02)\ 10^{-3}$	2.0 0.005
Образец №125 (кукуруза)	тебуконазол	$(0.74 \pm 0.05)\cdot 10^{-2}$	0.1
Образец №131 (пшеница)	циперметрин афлатоксин В1	менее ПКО $(0.51 \pm 0.03)\ 10^{-3}$	2.0 0.005
Образец №158 (кукуруза)	циперметрин	$(0.13 \pm 0.04)\ 10^{-2}$	0.05
Образец №160 (кукуруза)	афлатоксин В1 Т-2 токсин	$(0.33 \pm 0.02)\ 10^{-3}$ $(0.72 \pm 0.04)\ 10^{-2}$	0.005 0.1
Образец №164 (ячмень)	циперметрин охратоксин А	$(0.54 \pm 0.03)\ 10^{-1}$ $(0.61 \pm 0.05)\ 10^{-3}$	2.0 0.005
Образец №174 (пшеница)	тебуконазол Т-2 токсин	менее ПКО $(0.44 \pm 0.02)\ 10^{-2}$	0.2 0.1
Образец №177 (кукуруза)	циперметрин афлатоксин В1	$(0.32 \pm 0.04)\ 10^{-3}$ менее ПКО	0.05 0.005
Образец №202 (рожь)	2,4-дихлорфенокси-уксусная кислота	менее ПКО	0.05
Образец №231 (кукуруза)	зеараленон дезоксиниваленол афлатоксин В1	$(0.53 \pm 0.02)\cdot 10^{-2}$ $(3.28 \pm 0.05)\cdot 10^{-2}$ $(1.43 \pm 0.04)\ 10^{-3}$	0.2 0.7 0.005
Образец №267 (кукуруза)	прометрин дезоксиниваленол	менее ПКО $(1.74 \pm 0.04)\cdot 10^{-2}$	0.1 0.7
Образец №268 (пшеница)	афлатоксин В1	$(0.81 \pm 0.02)\ 10^{-3}$	0.005

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Образец №273 (кукуруза)	Т-2 токсин зеараленон	$(0.63 \pm 0.03)\ 10^{-2}$ $(0.94 \pm 0.04)\cdot 10^{-2}$	0.1 0.2
Образец №292 (ячмень)	имидаклоприд	менее ПКО	0.1
Образец №307 (пшеница)	дезоксиниваленол афлатоксин В1	$(8.17 \pm 0.02)\cdot 10^{-2}$ $(0.65 \pm 0.03)\ 10^{-3}$	0.7 0.005
Образец №311 (кукуруза)	Т-2 токсин	$(1.56 \pm 0.02)\ 10^{-2}$	0.1
Образец №317 (кукуруза)	афлатоксин В1 зеараленон	$(0.92 \pm 0.04)\ 10^{-3}$ $(0.77 \pm 0.03)\cdot 10^{-2}$	0.005 0.2
Образец №339 (пшеница)	афлатоксин В1	$(2.31 \pm 0.02)\ 10^{-3}$	0.005

В образцах природных поверхностных вод пестицидов обнаружено не было.

Результаты определения загрязненности зерновых культур пестицидами и микотоксинами показали, что 6,9% проб было положительным по данным показателям (Табл. 1). При исследовании образцов зерновых культур остаточные количества пестицидов выявили в 14 пробах, что соответствует 4,1% от общего числа анализируемых проб. Следует отметить, что в наибольшей степени, контаминированной данными соединениями оказалась кукуруза, 6 из 14 образцов, в которых обнаружили пестициды. В экстрактах, исследуемых образцов, также выявлены: циперметрин, прометрин, тиаметоксам, имидаклоприд, 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, тебуконазол и хлорпирифос, среди которых наиболее распространённым контаминантом являлся циперметрин.

В результате проведенных исследований по определению остаточных количеств микотоксинов выявлены: зеараленон, Т-2 токсин, афлатоксин В1, охратоксин А и дезоксиниваленол. Среди которых наиболее распространенным оказался афлатоксин В1, 9 из 19 образцов, в которых обнаружили микотоксины (Табл. 1). Следует отметить, что уровень микотоксинов и пестицидов в исследуемых экстрактах образцов зерновых культур не превышал МДУ.

Исследования, направленные на выявление уровня загрязнения кормов для сельскохозяйственных животных (птицы, свиней и КРС) вторичными

метаболитами микроскопических грибов, показали, что 24,2% проб содержали микотоксины: зеараленон, Т-2 токсин, афлатоксин В1, фумонизин В1 и дезоксиниваленол (Табл. 2).

Таблица 2 – Результаты определения остаточных количеств микотоксинов в образцах комбикормов для сельскохозяйственных животных

Объект исследования	Определяемое соединение	Диапазон обнаружения, мг/кг корма	МДУ, мг/кг
Комбикорм полнорационный для продуктивной птицы	афлатоксин В1	0.002 – 0,045	0.02
	зеараленон	0.267 – 1.824	2.0
	дезоксиниваленол	0.260 – 2.347	2.0
	Т-2 токсин	0.031 – 0.142	0.1
Комбикорм полнорационный для свиней	афлатоксин В1	0.007 – 0,082	0.05
	зеараленон	0.452 – 1.413	1.0
	дезоксиниваленол	0.186 – 2.537	2.0
	Т-2 токсин	0.016 – 0.084	0.1
	фумонизин В1	0.345 – 1.692	5.0
Комбикорм концентрат для КРС	афлатоксин В1	0.001 – 0,034	0.02
	зеараленон	0.637 – 1.381	2.0
	дезоксиниваленол	0.402 – 2.115	2.0

Установили, что 13,2% проб было загрязнено одним микотоксином, 8,8% – двумя микотоксинами, 2,2% – тремя и более микотоксинами. Превышение допустимого уровня микотоксинов было отмечено в 8,1% проб (Зеленодольский, Арский, Заинский, Нурлатский районы), в 16,1% проб содержание было ниже МДУ. Наиболее благополучными оказались Сармановский, Черемшанский и Мамадышский районы, здесь обнаружены единичные образцы комбикормов с низким содержанием микотоксинов. Результаты исследования кормов для сельскохозяйственных животных на содержание микотоксинов представлены на рисунке 3.

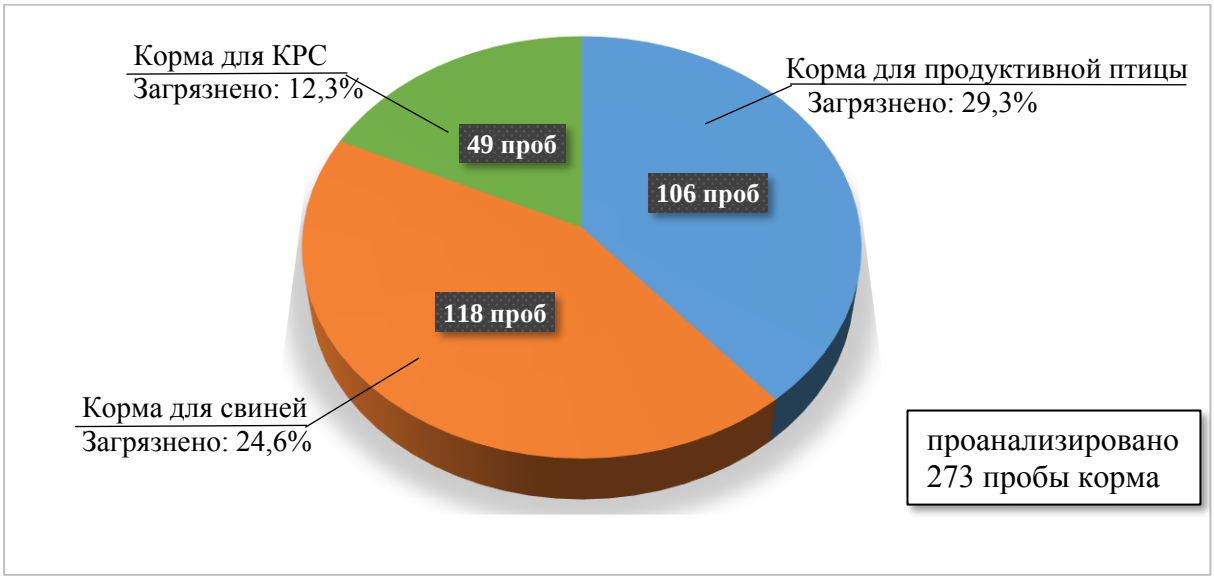

Рисунок 3 – Загрязненность кормов для сельскохозяйственных животных микотоксинами

Таким образом, в ходе мониторинга пестицидов и микотоксинов в зерновых культурах, объектов окружающей среды, таких как почва, поверхностные воды установлено, что уровень их загрязнения пестицидами и микотоксинами не превышает значений, установленных требованиями нормативной документации, только в одном образце почвы из-под культуры подсолнечника уровень гербицида класса ЧАС превышал МДУ на 25%. Обнаружение пестицидов в исследуемых образцах подразумевает возможное попадание данных соединений в организм животных, употребляющих контаминированный корм, что выражается в ухудшении ветеринарно-санитарных показателей животноводческой продукции. Несмотря на то, что большинство пестицидов обнаружено в количестве, не превышающем МДУ, их дальнейшее попадание в продукцию животноводства не является показателем хорошего качества. Количество каждого определяемого микотоксина в зерновых культурах не превышало МДУ, но это не показатель благополучия по комплексному анализу наличия микотоксинов.

Исследование по изучению индивидуального и комбинированного загрязнения наиболее распространенными и токсичными микотоксинами комбикормов для сельскохозяйственных животных продемонстрировало наличие искомых токсикантов во всех трех видах кормов. Наибольший процент

загрязненных образцов установили на корма для продуктивной птицы и свиней. Выявлены образцы с высоким содержанием исследуемых аналитов, превышающих МДУ.

Большинство выявленных микотоксинов обнаружено в комбинации друг с другом, учитывая совокупность токсического эффекта и кумулятивные свойства некоторых из них токсический эффект может проявиться без явной клинической картины отравления, а выражаться в снижении продуктивности животных и ухудшении ветеринарно-санитарных показателей продукции.

Следует отметить, что афлатоксин В1 был обнаружен и в образцах зерновых культур на уровне менее МДУ и в образцах трех видах проанализированных комбикормов в концентрациях, превышающих допустимый уровень. Поскольку данный микотоксин является наиболее токсичным, важно продолжать контролировать его остаточные количества в сырьевых кормовых ингредиентах и конечных продуктах, зерновых культурах и пищевых продуктах в будущем.

2.2.2 Разработка способов индикации афлатоксина В1 и витамина А в биологической матрице

2.2.2.1 Оптимизация условий пробоподготовки и режима хроматографирования витамина А в сыворотке крови и печени животных

На первом этапе исследований был модифицирован и отработан ВЭЖХ метод определения содержания витамина А в экстрактах образцов сыворотки крови, найдены наиболее подходящие условия омыления липидной фракции и экстракции данного витамина, сняты хроматограммы с целью выявления наилучшего выхода витамина А в экстракт.

Выбранные условия применяли для определения витамина А в биологических образцах.

Влияние температуры и времени инкубирования. Установлено, что с увеличением времени и температуры инкубации степень извлечения витамина А

увеличивается. Было отмечено, что для лучшего извлечения на стадии инкубировании оптимальным является температура 75 °С при увеличении времени инкубации на 15 минут. При этом дальнейшее увеличение продолжительности данной стадии не оказывало влияния на степень извлечения.

Влияние концентрации раствора гидроксида калия. Процесс сапонификации был осуществлен с различными концентрациями раствора гидроксида калия: 10 М (как было предложено в исходном методе); 15 М; 20 М и 25 М. Установлено, что максимальное значение степени извлечения получено при применении 20 М раствора гидроксида калия.

Влияние продолжительности центрифугирования. Установлено, что оптимальным условием является центрифугирование проб в течение 5 минут. При этом отмечено, что на степень извлечения витамина дальнейшее увеличение времени центрифугирования не оказывало влияния.

При проведении экстрации витамина А из сыворотки крови была исключена стадия сапонификации, что позволило уменьшить время обработки пробы и стоимость анализа. При этом установлено, что на степень извлечения витамина исключение данной стадии не оказывало влияния.

Хроматографические исследования. Проведен подбор оптимальных условий хроматографирования витамина А заключающийся в выборе состава элюента, скорости потока подвижной фазы и количества пробы, вводимой в инжектор.

ВЭЖХ анализ был проведен при изократичном режиме элюирования. Для достижения наилучшего хроматографического разделения проведены исследования по изучению состава подвижной фазы. Применяли следующие системы: 1) ацетонитрил-изопропиловый спирт-вода; 2) ацетонитрил-изопропиловый спирт; 3) ацетонитрил. Хроматографический анализ выполнен на октадецильном сорбенте, обеспечивающим эффективное хроматографическое разделение. Скорость подвижной фазы варьировали в пределах 1,0 – 2,0 мл/мин. Наиболее приемлемыми оказались условия: ацетонитрил в качестве подвижной фазы при скорости потока 1,5 мл/мин. Установлено, что при объеме вводимой пробы 20 мкл достигается максимальная чувствительность с минимальным

размыванием хроматографической зоны исследуемого аналита. Детектирование проведено при длине волны – 325 нм. Хроматограмма стандартного образца витамина А представлена на рисунке 4.

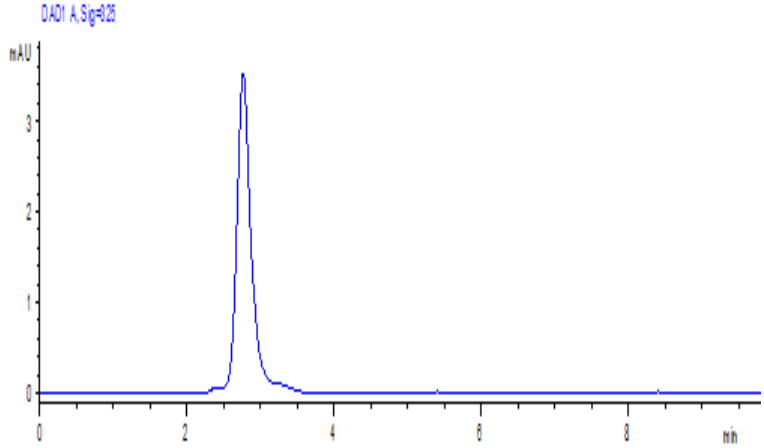

Рисунок 4 – Хроматограмма стандартного раствора витамина А (1 мкг/мл) при экстракции по модифицированной методике (t=2,768 мин)

При ВЭЖХ анализе в оптимально найденных условиях наблюдали отсутствие искажения формы хроматографического пика ретинола. Концентрацию ретинола определяли по показателю площади аналитического сигнала относительно стандарта исследуемого аналита.

В ходе проведенных исследований нами был усовершенствован ВЭЖХ метод со спектрофотометрическим определением витамина А в биологических образцах. Подобран оптимальный режим хроматографирования, предложен упрощенный вариант пробоподготовки образцов сыворотки крови, также модифицированы условия омыления липидной фракции при пробоподготовки образцов печени (увеличили насыщенность гидроокиси калия, температуру и длительность). Проведение данных манипуляций способствовало увеличению исследуемого аналита в экстракте образца на 15%.

2.2.2.2 Подбор условий пробоподготовки патологического материала для извлечения афлатоксина B1

В связи с отсутствием в РФ утвержденных методик определения афлатоксина B1 в органах и тканях было принято решение о разработке оптимальной схемы пробоподготовки биологического материала с последующим определением остаточных количеств токсина методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием.

Подобранные условия пробоподготовки применяли для определения афлатоксина B1 в патматериале, полученном от экспериментальных животных.

Экстракция афлатоксина B1. Установлено, что для образцов печени и мышечной ткани массой в 10 г достаточно 30 мл дихлорметана. При этом отмечено, что последовательная экстракция двумя порциями экстрагента значительно эффективнее, чем однократная с использованием всего объема дихлорметана сразу (Рис. 5а). Известно, что одним из факторов, влияющих на степень извлечения, является время перемешивания. Наиболее подходящее время для извлечения афлатоксина из печени и мышечной ткани, в общем, составило 35 минут.

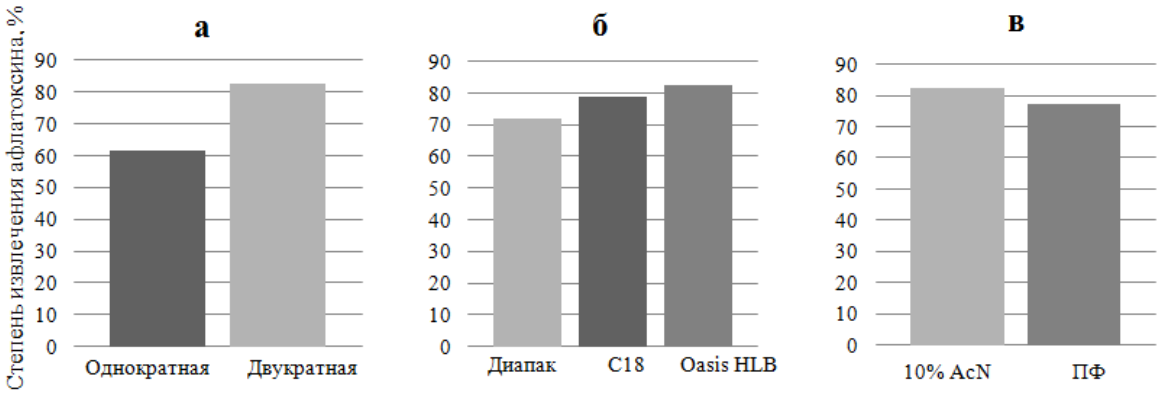

Рисунок 5 – Зависимость степени извлечения афлатоксина B1 из печени и мышечной ткани от *а*) количества экстракций; *б*) влияния сорбентов Oasis HLB, C18, Диапак; *в*) влияния раствора при реакции дериватизации

Подбор сорбента для очистки экстракта. С целью уменьшения мешающего влияния компонентов исследуемых матриц, в которые предварительно был внесен

стандартный образец, провели очистку экстракта с использованием следующих сорбентов: С18; концентрирующий патрон Диапак; Oasis HLB. Установлено, что очистка экстракта с применением картриджа Oasis HLB является оптимальным для получения высокой и стабильной степени извлечения афлатоксина (Рис. 5б).

Подбор условий реакции дериватизации. В качестве раствора при проведении процесса дериватизации использовали подвижную фазу (ПФ) и 10% ацетонитрил (ACN). Наиболее подходящим оказался 10% раствор ACN, способствующий максимальной степени извлечения (Рис. 5в).

С целью получения максимального извлечения афлатоксина из образцов изучали влияние температуры и времени инкубации на реакцию дериватизации. Определили, что с увеличением температуры и времени инкубации степень извлечения повышается. Установили, что оптимальным является проведение реакции дериватизации при 60 °С в течении 10 мин (Рис. 6). Отметили, что дальнейшее увеличение температуры и времени инкубации не оказывало влияния на степень извлечения афлатоксина.

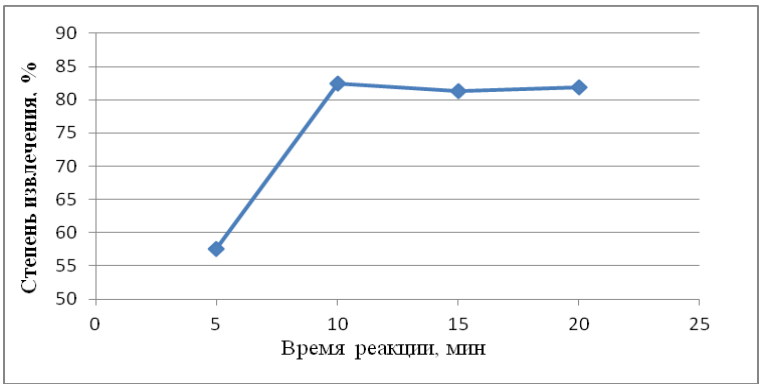

Рисунок 6 – Зависимость степени извлечения афлатоксина B1 от времени инкубирования образца при 60 °С

Идентификацию афлатоксина в экстрактах, полученных вышеописанным способом осуществляли по времени удерживания стандартного раствора, обсуждаемого микоткосина.

2.2.2.3 Установление метрологических характеристик ВЭЖХ метода определения афлатоксина В1

Установлены основные метрологические характеристики метода: специфичность, линейность, чувствительность, точность или прецизионность.

Специфичность метода устанавливали путем внесения стандартного раствора афлатоксина в матрицу «чистой» пробы. На рисунке 7 представлена хроматограмма афлатоксина В1 в матрице пробы печени, демонстрирующая чистую хроматограмму без каких-либо фоновых помех, создаваемых коэкстрактивными веществами матрицы.

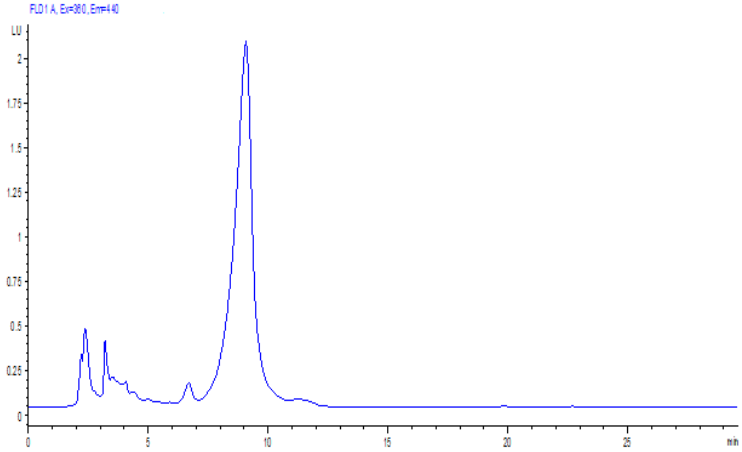

Рисунок 7 – Хроматограмма аналитического стандарта афлатоксина В1 (0,05 мкг/мл) из модельных матриц биологического материала (t=9,054 мин)

Линейность метода определяли с помощью стандартных растворов афлатоксина в диапазоне концентраций от 0,05 до 1,0 мкг/мл. Коэффициент корреляции (r^2) при этом составил 0,999. Для определения значения степени извлечения (R) в чистую пробу печени добавляли стандартные растворы афлатоксина известных концентраций. Исследования проводили в трех повторностях. Результаты установления линейности метода и среднее значение степени извлечения афлатоксина представлены в таблице 3.

В таблице 3 представлены аналитические характеристики определения афлатоксина В1 в патологическом материале методом ВЭЖХ-ФЛД.

Таблица 3 – Аналитические характеристики определения афлатоксина B1 методом ВЭЖХ

Определяемое соединение	Предел обнаружения, мкг/кг	Предел определения, мкг/кг	Диапазон линейности ГГ, мкг/мл	r^2	R,% (n=3, p=0,95)
Афлатоксин B1	5	15	0,05-1,0	0,999	82,4±8

Примечание: ГГ – градуировочный график

Чувствительность метода оценивали по пределу обнаружения и пределу количественного определения. Предел обнаружения был обозначен как самая низкая концентрация, дающая отклик, в три раза превышающий среднее значение базового шума на хроматограммах, полученных от экстракта образцов с внесенным стандартным раствором афлатоксина. Предел количественного определения был обозначен как самая низкая концентрация, дающая отклик, в десять раз превышающий среднее значение базового шума на аналогичных хроматограммах (Табл. 3).

Таблица 4 – Оценка достоверности и прецизионности метода количественного определения афлатоксина (n=3)

Концентрация стандартного раствора от формального, %	Ожида-емое значение, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Найдено, %	Среднее значение, %	Стандартное отклонение	Относительное стандартное отклонение, %
50	0,250	0,255 0,253 0,249	51,00 50,60 49,80	50,50	0,00305505	1,21072
100	0,500	0,501 0,503 0,499	100,2 100,6 99,8	100,2	0,002	0,3992016
150	0,750	0,747 0,753 0,756	149,4 150,6 151,2	150,4	0,004582576	0,6093851

Для оценки *достоверности* метода измеряли содержание микотоксина в пробах с добавкой известной концентрацией. Измерение проводили на трех уровнях. *Точность* метода в виде относительного стандартного отклонения устанавливали путем вычисления отклика при анализе образца печени с внесенным стандартным раствором афлатоксина.

Как видно из данных, представленных в таблице 4 результаты достоверности и прецизионности метода соответствовали нормам, на что указывает критерий приемлемости по относительному стандартному отклонению, который не превышал 2% для всех проанализированных концентраций.

Таким образом, принимая во внимание все вышеперечисленные параметры, метод ВЭЖХ-ФЛД и процедуру пробоподготовки, использованную в этом исследовании, можно рассматривать как селективную, точную и надежную для определения афлатоксинов в биологическом материале.

2.2.3 Результаты лабораторных испытаний на кроликах

Для изучения профилактической эффективности ретинола ацетата и цеолита при отравлении афлатоксином В1 были проведены опыты в условиях вивария на кроликах в возрасте 1 года с массой тела 2300-2400 грамм (порода Шиншилла). Кроликов разделили на 6 групп по принципу аналогов по шесть голов в каждой, согласно схеме эксперимента:

1) первая группа – биологический контроль, основной рацион (далее БК);

2) вторая группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (75 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки) (далее АфВ1);

3) третья группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (75 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки) и ретинола ацетат (175 МЕ/кг живой массы в течение 55 суток) (далее АфВ1 + в.А 175 МЕ);

4) четвертая группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (75 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки) и ретинола ацетат (375 МЕ/кг живой массы в течение 55 суток) (далее АфВ1 + в.А 375 МЕ);

5) пятая группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (75 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки), ретинола ацетат (375 МЕ/кг живой массы в течение 55 суток) и цеолит (2% от рациона, в период с 30-х по 55 сутки) (далее АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц2%);

6) шестая группа – основной рацион, ретинола ацетат (375 МЕ/кг живой массы в период с 30-х по 55 сутки) и цеолит (2 % от рациона, в период с 30-х по 55 сут) (далее БК + в.А 375 МЕ + Ц2%).

Забор крови кроликов проводили из краевой вены уха. Для оценки эффективности применения ретинола ацетата и цеолита при экспериментальном афлатоксикозе учитывали клинические признаки животных, динамику массы тела, гематологические и биохимические показатели, показатели неспецифической резистентности, проводили патоморфологические исследования внутренних органов. Животных взвешивали при формировании групп, в начале и в конце опыта.

2.2.3.1 Санитарно-гигиенические характеристики условий содержания экспериментальных кроликов в условиях вивария

Эксперименты на лабораторных животных выполняли в виварии для лабораторных животных, который имеет прямоугольную форму. Структурно виварий разделен на следующие помещения: комнату для персонала, комнаты приема животных и содержания их на карантине, комнаты проведения экспериментов, манипуляционную комнату, комнату для мойки и дезинфекции, помещения для складирования кормов и инвентаря.

Поступивших кроликов, до начала эксперимента 14 суток содержали на карантине. По истечению указанного периода животных переводили в помещение

с индивидуальными клетками со следующими характеристиками: материал стенок из оцинкованной металлической сетки с ячейками 20×40 мм, дно клетки из аналогичного материала с ячейками 18×18 мм, V-образный кормушкой для сена, расположение на металлические стеллажи на высоте 40–50 см от пола. Кроликам были присвоены номера, которые были отображены на маркировке клетки.

Основные показатели микроклимата экспериментальных помещений были следующие: температура воздуха (16,6±1,42) °С, относительная влажность (77,7±0,62)%, скорость движения воздуха 0,39±0,03 м/с, содержание углекислого газа в воздухе (0,14±0,05)%, уровень сероводорода (0,011±0,02) мг/м^3, аммиак не выявлен. Полученные показатели соответствовали правилам содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами [39].

Кормление животных, с момента начала карантина и до окончания исследования осуществляли при условии свободного доступа кроликов к питьевой воде, грубым (сено разнотравное) и концентрированным кормам. Состав концентрированного корма (производство ООО «Птицефабрика Акашевская» Комбикормовый завод, по рецептуре № К-122-181) указан на рисунке 8.

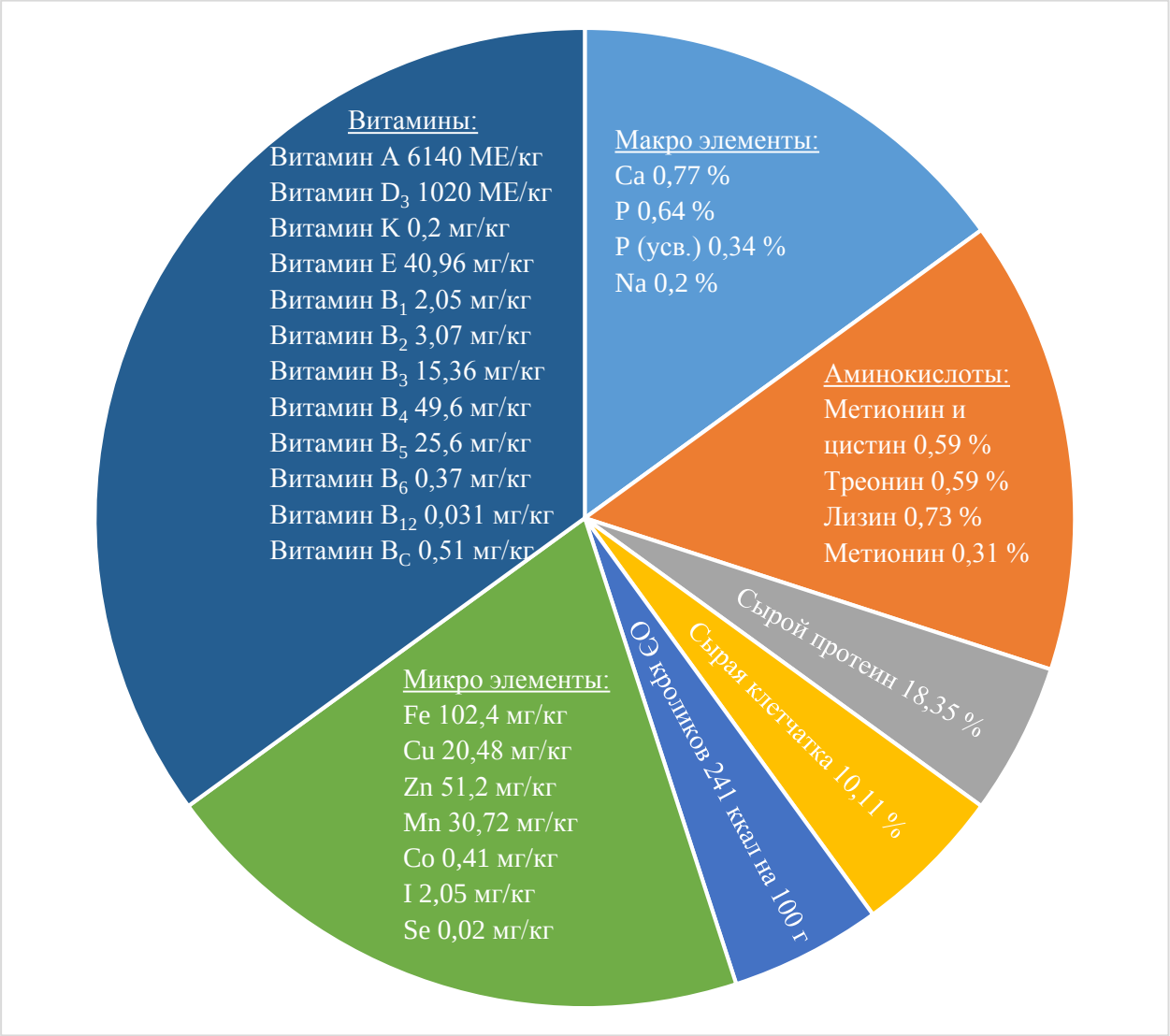

Рисунок 8 – Рецепт комбикорма №К-122-181 для кроликов

2.2.3.2 Морфо-биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита

Клиническое состояние кроликов, получавших токсичный рацион без добавления испытываемых средств имело все признаки афлатоксикоза: состояние животных подавленное, потребление корма заметно снижено, работа ЖКТ нарушена, что провоцировало диарею. Профилактический эффект испытуемых средств на клинический статус животных отметили в группах с применением ретинола ацетата. Наилучшие результаты получены в пятой группе, где совместное

применение ретинола ацетата и цеолита препятствовало проявлению внешних признаков отравления.

Известно, что показатели живой массы характеризуют продуктивность животных. Из данных таблицы 5, на которой представлена масса тела кроликов при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита, видно, что в группе животных, получавших токсичный рацион в период с 30-х по 55 сут прирост живой массы увеличивался незначительно и в конце опыта была ниже на 20,9% ($p<0,05$) в сравнении с группой биологического контроля. Аналогичный показатель в третьей и четвертой группах в указанные сроки опыта был ниже контрольной группы на 18,6 и 14,0% соответственно.

Прирост живой массы кроликов пятой группы к концу опыта был ниже относительно живой массы кроликов группы биологического контроля на 4,7%.

Таблица 5 – Масса тела кроликов при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (кг) (n=6)

Сроки исследования, сут	Группа кроликов					
	1.БК	2.АфВ1	3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%
1	2,32 ±0,17	2,35 ±0,16	2,31 ±0,16	2,32 ±0,15	2,31 ±0,15	2,30 ±0,18
30	2,82 ±20	2,81 ±0,18	2,77 ±0,19	2,79 ±0,18	2,78 ±0,17	2,80 ±0,20
55	3,25 ±0,19	3,15 ±0,20*	3,12 ±0,17*	3,16 ±0,17*	3,19 ±0,21	3,28 ±0,18

Примечание: *P < 0,05

Наибольший прирост живой массы определили у кроликов шестой группы. Животные данной группы увеличили живую массу в период с 30 по 55 сут на 480 г, в то время как их аналоги из группы биологического контроля – на 430 г.

Среднесуточный прирост в шестой группе был на 11,6% больше, по сравнению с группой биологического контроля.

Динамика изменения гематологических показателей при смоделированном афлатоксикозе и на фоне применения рациона с ретинола ацетатом и цеолитом представлена в таблице 6. Установили, что во второй группе животных, получавших токсичный корм, обсуждаемые показатели за всё время исследования были ниже исходных значений. Уровень эритроцитов в обсуждаемой группе на 35, 45 и 55 сут был ниже фона на 4,0; 11,8 и 23,0% ($p<0,01$); лейкоцитов и гемоглобина на 3,0; 10,6 ($p<0,05$) и 18,6% ($p<0,01$) и на 2,6; 6,1 ($p<0,05$) и 14,1% ($p<0,01$), соответственно, и рассматриваемые показатели были ниже относительно группы биологического контроля на 6,5; 12,4; 24,3% ($p<0,01$); и на 1,5; 10,0 ($p<0,05$); 17,5% ($p<0,01$); и на 5,9; 10,2 ($p<0,05$); 17,2% ($p<0,01$), соответственно.

Таблица 6 – Морфологические показатели крови кроликов при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=6)

Группа кроликов	Показатель		
	Лейкоциты, 10^9 /л	Эритроциты, 10^{12} /л	Гемоглобин, г/л
1	2	3	4
	Исходные данные		
1.БК	9,42±0,20	5,43±0,21	125,48±1,88
2.АфВ1	9,54±0,21	5,35±0,19	119,43±1,43
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	9,39±0,19	5,46±0,18	122,43±2,16
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	9,28±0,18	5,29±0,22	121,23±2,50
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	9,46±0,19	5,38±0,20	122,80±1,72
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	9,31±0,21	5,41±0,18	123,56±2,41
	35 сут		
1.БК	9,39±0,22	5,50±0,17	123,56±2,07
2.АфВ1	9,25±0,20	5,14±0,18	116,28±1,79
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	9,21±0,18	5,32±0,15	125,57±2,03
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	9,15±0,20	5,20±0,20	126,63±1,54
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	9,35±0,19	5,36±0,16	126,62±1,93
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	9,33±0,18	5,44±0,19	126,41±2,38

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4
	45 сут		
1.БК	9,48±0,21	5,39±0,17	124,87±1,90
2.АфВ1	8,53±0,18*	4,72±0,19	112,11±2,01*
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	8,73±0,19	4,93±0,19	118,74±1,69
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	8,80±0,17	4,91±0,20	119,16±1,64
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	9,11±0,20	5,26±0,18	124,36±1,83
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	9,37±0,21	5,51±0,17	130,57±2,11
	55 сут		
1.БК	9,41±0,17	5,44±0,18	123,92±1,67
2.АфВ1	7,76±0,16**	4,12±0,16**	102,57±1,81**
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	7,97±0,19**	4,41±0,18*	111,08±1,92**
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	8,03±0,18**	4,43±0,17*	112,22±1,83**
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	8,73±0,17*	4,98±0,19	118,87±2,05
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	9,42±0,19	5,64±0,18	134,61±2,56

Примечание: *Р < 0,05; **Р < 0,01

Относительно фоновых значений уровень эритроцитов в крови кроликов 3 группы на 35, 45 и 55 сут был ниже на 2,6; 9,7 и 19,2% (р<0,05); лейкоцитов – на 2,0; 7,0 и 15,1% (р<0,01), соответственно, и, соответственно, на 3,3; 8,5 и 18,9% (р<0,05) и на 1,9; 8,0 и 15,3% (р<0,01) по сравнению с группой биологического контроля. Отметили незначительное превышение гемаглобина относительно фона и биологического контроля на 35 сут опыта, в последующем данный показатель снизился на 3,0 и 9,3% (р<0,05), соответственно, по сравнению с исходными данными и на 4,9 и 10,4% (р<0,01), соответственно, относительно контрольных аналогов.

Результаты гематологических показателей у кроликов 4 группы показали уменьшение концентрации эритроцитов в обсуждаемые сроки на 1,7; 7,2 и 16,3% (р<0,05); лейкоцитов – на 1,4; 5,2 и 13,5% (р<0,01); концентрация гемоглобина стала выше на 4,5% и уменьшилась на 1,7 и 7,4% (р<0,05) соответственно, по сравнению с исходными данными и относительно группы биологического

контроля количество эритроцитов и лейкоцитов понизилось соответственно на 5,5; 8,9 и 18,5% (p<0,05) и на 2,6; 7,2 и 14,7% (p<0,01); уровень гемоглобина повысился на 2,5% и уменьшился на 4,6 и 9,4% (p<0,01)

Включение в токсичный корм ретинола ацетата и цеолита способствовало уменьшению негативного действия афлатоксина В1 на исследуемые показатели в пятой группе кроликов. Так, на 35 и 45 сут уровень эритроцитов в крови снизился незначительно и составил 0,4 и 2,2% соответственно от фона и 2,5 и 2,4% соответственно относительно контрольной группы. На 55 сут снижение исследуемого показателя составило 7,4% от исходных данных и 8,5% от данных группы биологического контроля. Количество лейкоцитов на 35, 45 и 55 сут снизилось на 1,2; 3,7 и 7,7% (p<0,05), соответственно, по сравнению с фоном и на 0,4; 3,9 и 7,2% (p<0,05) соответственно по сравнению с биологическим контролем. Содержание гемаглобина на 35 и 45 сут эксперимента было незначительно выше, как первоначальных данных, так и контрольных аналогов. К концу опыта обсуждаемый показатель был ниже фона на 3,2%, а контрольной группы – на 4,0%.

У кроликов шестой группы не наблюдали заметных изменений, указанных гематологичеких показателей как по отношению к исходным данным, так и по отношению к группе биологического контроля. Однако следует отметить, что к концу эксперимента на фоне применения ретинола ацетата и цеолита отмечали отклонения исследуемых показателей в сторону их небольшого роста. Так, к концу эксперимента рост количества эритроцитов составил 4,3%, лейкоцитов – 1,2%, гемоглобина – 8,9% по отношению к исходным данным; по отношению к группе биологического контроля эритроцитов – на 3,8%, гемоглобина – на 8,6%, количество лейкоцитов было на уровне группы сравнения.

В таблице 7 представлены изменения биохимических показателей крови кроликов при хроническом афлатоксикозе В1. На 35, 45 и 55 сут опыта содержание общего белка у животных получавших “токсичный корм” снижалось на 4,4; 16,7 (p<0,001) и 25,2% (p<0,001); альбуминов – на 1,8; 6,8 и 15,9% (p<0,01), соответственно, относительно исходных данных; в сравнении с группой биологического контроля – соответственно на 5,4; 18,0 (p<0,001) и 26,0% (p<0,001)

и на 2,6; 6,7 (p<0,05) и 15,3% (p<0,01). Концентрация α и β-глобулинов в сыворотке крови животных исследуемой группы на 35, 45 и 55 сут повысилась на 6,3; 20,1 и 39,0% (p<0,01) и на 3,4; 16,1 (p<0,05) и 43,5% (p<0,01) соответственно относительно исходных данных и на 7,6; 17,6 и 36,6% и на 8,5; 20,9 (p<0,05) и 40,1% (p<0,01) соответственно относительно показателей группы биологического контроля. Содержание γ-глобулинов в сравнении с исходными данными снизилось на 0,7; 2,8 и 5,5%, и относительно группы контроля – на 2,2; 4,1 и 5,0% соответственно.

Таблица 7 – Содержание общего белка и белковых фракций в сыворотки крови кроликов при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=6)

Группа кроликов	Показатель				
	Общий белок, г/л	Фракции белка, %			
		Альбумины	α-глобулины	β-глобулины	γ-глобулины
1	2	3	4	5	6
Исходные данные					
1.БК	71,26±0,63	57,08±1,32	11,63±0,57	12,11±0,28	19,18±0,63
2.АфВ1	70,96±0,47	56,49±0,91	11,71±0,46	12,53±0,32	19,27±0,82
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	69,10±0,81	56,92±1,16	11,75±0,41	12,12±0,42	19,21±0,46
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	70,11±0,50	56,82±2,10	11,68±0,53	11,87±0,27	19,63±0,41
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	69,84±0,74	56,81±0,94	11,56±0,49	12,05±0,20	19,58±0,59
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	70,53±0,68	57,21±1,52	11,68±0,59	12,15±0,36	18,96±0,74
35 сут					
1.БК	71,68±0,56	56,92±1,10	11,57±0,44	11,94±0,31	19,57±0,55
2.АфВ1	67,81±0,62	55,47±1,22	12,45±0,51	12,95±0,26	19,13±0,82
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	67,98±0,67	56,07±1,26	12,32±0,37	12,25±0,28	19,36±0,69
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	69,04±0,42	56,52±1,32	11,79±0,46	12,17±0,21	19,52±0,63

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	69,57±0,59	56,98±1,07	11,63±0,40	11,88±0,38	19,51±0,62
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	70,83±0,61	57,11±0,93	11,62±0,35	12,17±0,32	19,10±0,58
45 сут					
1.БК	72,13±0,75	56,45±0,97	11,96±0,52	12,04±0,29	19,55±0,49
2.АфВ1	59,14 ±0,62***	52,65 ±1,06*	14,06 ±0,46	14,55 ±0,28*	18,74 ±0,76
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	61,82 ±0,68**	54,04 ±0,84	13,28 ±0,41	13,76 ±0,31	18,92 ±0,63
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	63,42 ±0,53**	54,94 ±0,91	12,83 ±0,51	13,13 ±0,24	19,10 ±0,58
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	68,00 ±0,72*	56,32 ±0,87	12,07 ±0,49	12,16 ±0,26	19,45 ±0,68
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	73,43 ±0,79	57,00 ±0,81	11,53 ±0,45	12,10 ±0,32	19,37 ±0,53
55 сут					
1.БК	71,75±0,68	56,08±0,96	11,92±0,51	12,83±0,29	19,17±0,59
2.АфВ1	53,11 ±0,74**	47,52 ±0,93**	16,28 ±0,47**	17,98 ±0,22**	18,22 ±0,69
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	54,72 ±0,77**	48,65 ±1,03*	15,73 ±0,45	17,21 ±0,25	18,41 ±0,72
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	56,83 ±0,69**	50,38 ±0,86*	14,73 ±0,55	16,22 ±0,30	18,67 ±0,64
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	64,16 ±0,63**	55,16 ±0,79	12,52 ±0,42	13,24 ±0,27	19,08 ±0,67
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	74,50 ±0,71	56,58 ±0,83	11,62 ±0,39	12,20 ±0,21	19,60 ±0,62

Примечание: *Р < 0,05; **Р < 0,01; ***Р < 0,001

Показатель общего белка в 3 группе животных по сравнению с первоначальными значениями в исследуемые сроки уменьшался на 1,6; 10,5

(p<0,01) и 20,8% (p<0,001); количество альбуминов – на 1,5; 5,1 и 14,5% (p<0,05); относительно биологического контроля – соответственно на 5,2; 14,3 (p<0,01) и 23,7% (p<0,001) и на 1,5; 4,3 и 13,3% (p<0,05). Показатели α и β-глобулинов к концу опыта были выше на 33,9 и 42,0%, соответственно, относительно исходных данных; в сравнении с группой биологического контроля – на 32,0 и 34,1%, соответственно. Показатель γ-глобулиновой фракции уменьшился на 4,2% по сравнению с фоном, и относительно контрольных аналогов - на 4,0%.

У кроликов четвертой группы на 35, 45 и 55 сут установили снижение содержания общего белка в сравнении с исходными данными на 1,5; 9,5 (p<0,01) и 18,9% (p<0,001); альбуминов – на 0,5; 3,3 и 11,3% соответственно; и в сравнении с группой биологического контроля – на 3,7; 12,0 (p<0,01) и 20,8% (p<0,001) и на 0,7; 2,7 и 10,2% (p<0,05) соответственно. Изменения содержания в сыворотке крови кроликов глобулиновых фракций были аналогичны изменениям в 3 группе животных, однако они были менее значительными.

Изменения биохимических параметров у животных 5 группы, с применением в качестве средств профилактики ретинола ацетата и цеолита, были менее значительны, так в конце эксперимента показатели общего белка и альбуминов уменьшились по сравнению с первоначальными значениями на 8,1 (p<0,01) и 2,9%; в сравнении с контрольными аналогами - на 10,6 (p<0,01) и 1,6% соответственно. Концентрация α и β глобулинов на 55 сут увеличилась относительно фона на 8,3 и 9,9%; относительно группы контроля – на 5,0 и 3,2% соответственно. Отметили снижение уровня γ-глобулиновой фракции на 2,6% относительно фона и относительно биологического контроля – на 0,5%.

Содержание общего белка, в сыворотке крови у кроликов шестой группы на фоне применения к основному рациону ретинола ацетата и цеолита незначительно увеличилось. По сравнению с исходными данными обсуждаемые показатели в исследуемые сроки увеличились на 0,4; 4,1 и 5,63%, соответственно, и по сравнению с группой биологического контроля на 35 сут было на уровне группы сравнения, на 45 и 55 сут увеличилось на 1,8 и 3,8% соответственно. Изучая уровень γ-глобулиновой фракции сыворотки крови отметили также тенденцию к

повышению. Исследуемый показатель на 55 сут был выше фона на 3,4% и на 2,2% группы биологического контроля. В пересчете на количество общего белка к концу опыта наблюдали повышение показателя альбумина, α, β и γ-глобулинов на 4,5; 5,1; 6,1 и 9,2% соответственно. Данные показатели находились в пределах физиологической нормы.

Результаты содержания глюкозы, также показателей активности АСТ и АЛТ представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Содержание глюкозы и показатели активности АСТ и АЛТ сыворотки крови кроликов при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=6)

Группа поросят	Показатель		
	Глюкоза, ммоль/л	АСТ, Е/л	АЛТ, Е/л
1	2	3	4
Исходные данные			
1.БК	5,35±0,21	22,06±0,85	26,19±0,45
2.АфВ1	5,27±0,18	22,75±0,96	25,80±0,41
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	5,19±0,22	22,46±0,77	26,05±0,54
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	5,26±0,25	21,42±0,91	25,43±0,57
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,22±0,24	22,87±0,77	26,22±0,48
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,31±0,19	21,28±0,88	25,56±0,52
35 сут			
1.БК	5,28±0,19	22,11±0,82	26,25±0,52
2.АфВ1	5,05±0,21	23,35±0,85	27,24±0,49
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	5,21±0,17	22,97±0,76	27,46±0,56
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	5,37±0,23	21,74±0,79	26,04±0,43
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,36±0,25	22,94±0,74	26,35±0,51
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,35±0,20	21,37±0,69	25,66±0,44
45 сут			
1.БК	5,32±0,18	22,15±0,72	26,23±0,45
2.АфВ1	4,75±0,22	24,39±0,83	29,70±0,51
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	5,06±0,18	23,90±0,76	29,75±0,62
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	5,18±0,20	22,24±0,88	27,62±0,41

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,32±0,22	23,15±0,75	26,88±0,57
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,40±0,26	21,30±0,64	25,54±0,49
55 сут			
1.БК	5,37±0,17	22,10±0,75	26,30±0,49
2.АфВ1	4,38±0,22	25,64±0,79	35,30±0,54*
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	4,76±0,18	24,98±0,94	34,93±0,42*
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	4,93±0,21	23,26±0,85	32,83±0,58*
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,28±0,19	23,56±0,71	27,64±0,47
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	5,44±0,24	21,25±0,80	25,50±0,51

Примечание: *Р < 0,05; **Р < 0,01; ***Р < 0,001

На 35, 45 и 55 сут опыта зарегистрировали снижение содержания глюкозы в сыворотке крови кроликов второй группы на 4,2; 9,9 и 16,9% относительно исходных значений; относительно группы биологического контроля – на 4,4; 10,7 и 18,4% соответственно.

Содержание глюкозы в сыворотке крови животных третьей группы к 35 сут превышало фоновые значения на 0,4% и было ниже данных контрольной группы на 1,3%; на 45 и 55 сут отмечали снижение данного показателя на 2,5 и 8,3% в сравнении с исходными данными и на 4,9 и 11,4% соответственно относительно биологического контроля.

В сыворотке крови животных четвертой группы уровень глюкозы на 35 сут был выше относительно исходных данных на 2,1%, относительно контрольной группы на 1,7%; к 45 сут данный показатель был ниже фона на 1,5% и ниже группы биологического контроля на 2,6%; на 55 сут наблюдали снижение количества глюкозы на 6,3% в сравнении с исходными значениями и на 8,2% по отношению к контрольной группе.

Существенных изменений количества исследуемого показателя в пятой группе животных как относительно фоновых значений, так и в сравнении с контрольными аналогами не выявлено.

Содержание глюкозы в крови кроликов шестой группы непретерпевало значительных изменений, в тоже время обсуждаемый показатель был выше относительно исходных данных к концу опыта на 2,5% и относительно контрольных аналогов на – 1,3%.

Данные полученные при изучении активности АСТ и АЛТ показали увеличение в исследуемые сроки опыта во 2 группе животных относительно первоначальных значений на 2,6; 7,2 и 12,7% и на 5,6; 15,1 и 36,8% ($p<0,05$), соответственно, и в сравнении с 1 группой к 35 сут уровень АСТ был выше на 5,6%; на 45 и 55 сут отмечали увеличение на 10,1 и 16,0%, соответственно; активность АЛТ увеличилась на 3,8; 13,2 и 34,2% ($p<0,05$), соответственно.

У кроликов третьей группы активность АСТ и АЛТ была повышена на 35, 45 и 55 сут на 2,3; 6,4 и 11,2% и на 5,4; 14,2 и 34,1% ($p<0,05$), соответственно, относительно исходных данных; в сравнении с группой биологического контроля увеличилась на 3,9; 7,9 и 13,0% и на 4,6; 13,4 и 32,8% ($p<0,05$), соответственно.

Также отмечали превышение активности АСТ и АЛТ на 35, 45 и 55 сут в сыворотке крови у животных четвертой группы на 1,5; 3,8 и 8,6% и на 2,4; 8,6 и 29,1% ($p<0,05$), соответственно, в сравнении с фоном; относительно первой группы в первые сроки исследований показатель АСТ был ниже на 1,7%; а при завершении опыта поднялся на 0,4 и 5,3%; АЛТ на 35 сут была ниже на 0,8%; к 45 и 55 сут опыта зарегистрировали поднятие на 5,3 и 24,8% ($p<0,05$), соответственно.

Активность АСТ и АЛТ у животных пятой группы на 35, 45 и 55 сут была выше относительно фоновых значений на 0,3; 1,2 и 3,0% и на 0,5; 2,5 и 5,4%, соответственно, и относительно первой группы зарегистрировали повышение АСТ на 3,8; 4,5 и 6,6% соответственно, активность АЛТ на 35, 45 и 55 сут была выше на 0,4; 2,5 и 5,1%, соответственно.

Исследование ферментов печени, шестой группы кроликов показало, что при добавлении в их рацион ретинола ацетата и цеолита каких-либо изменений, данных показателей как по сравнению с фоном, так и с контрольной группой не установлено.

На рисунке 9 представлена динамика изменения содержания витамина А в сыворотке крови кроликов, которая существенно повысилась в третьей, четвертой и пятой группах, что связано с тем, что кроликам данных групп вводили в рацион дополнительно ретинола ацетат. Уровень витамина А в данных группах повысился к 30 сут относительно группы контроля в 1,4; 1,7 и 1,7 раз, соответственно. В то же время у животных первой, второй и шестой групп в течение первых 30 сут этот показатель менялся незначительно по сравнению с исходными данными.

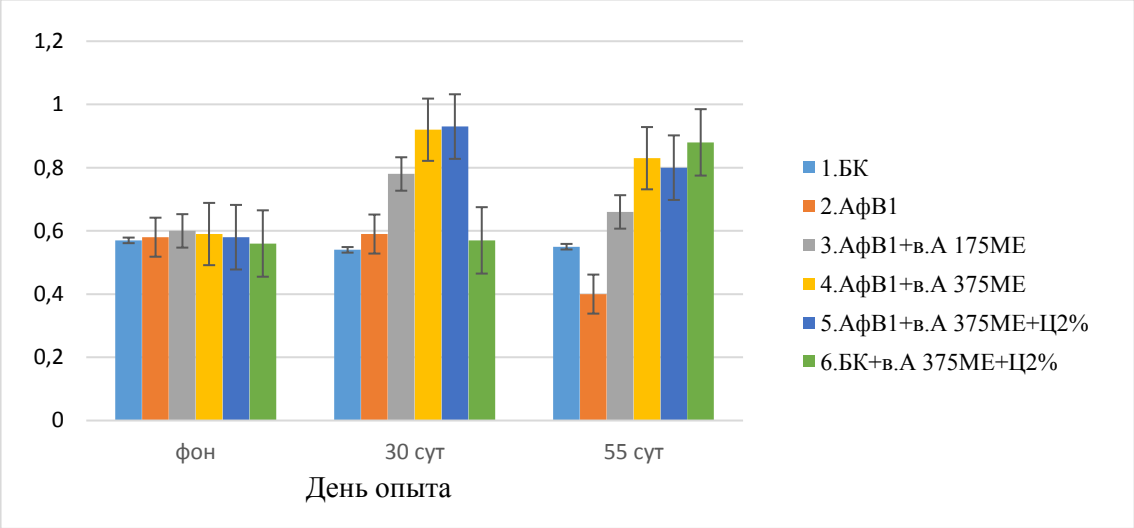

Рисунок 9 – Содержание витамина А в сыворотке крови кроликов при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (мкг/мл) (n=6)

Поступление в организм кроликов с 30-х сут афлатоксина В1 вызвало снижение уровня витамина А в сыворотке крови кроликов второй группы на 55 сут опыта относительно группы биологического контроля на 27,3% ($p<0,01$); относительно исходных данных – на 31,0% ($p<0,05$). Хроматограмма экстракта сыворотки крови кроликов второй группы, представлена на рисунке 10.

Количество витамина А в третьей, четвертой и пятой группах к 55 сут эксперимента также имело тенденцию к уменьшению, однако оставалось выше значений группы биологического контроля в 1,2; 1,5 и 1,45 раз, соответственно. Хроматограмма экстракта сыворотки крови кроликов пятой группы, представлена на рисунке 11.

Исследования показали, что содержание витамина А в сыворотке крови у кроликов шестой опытной группы в результате применения ретинола ацетата и цеолита, повысилось к концу опыта относительно контрольных сверстников и фоновых значений в 1,6 раз. При этом необходимо отметить, что данные изменения не выходили за пределы физиологических норм.

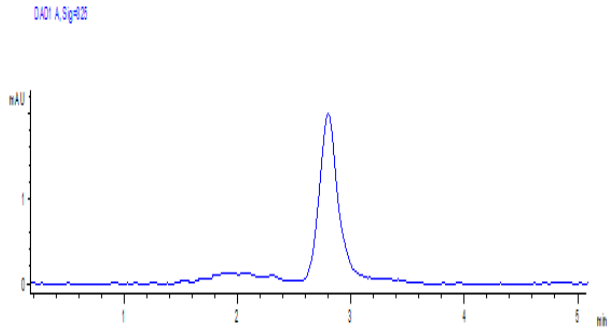

Рисунок 10 - Хроматограмма образца экстракта сыворотки крови кроликов второй группы, витамин А (t=2,803 мин)

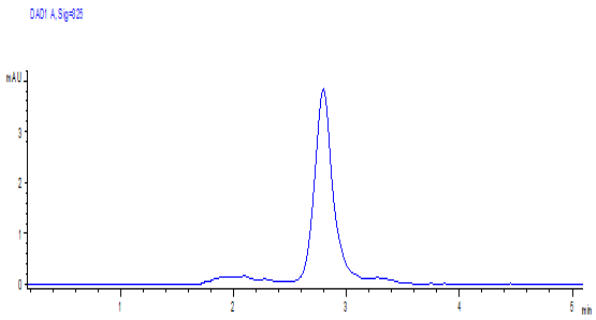

Рисунок 11 - Хроматограмма образца экстракта сыворотки крови кроликов пятой группы, витамин А в (t=2,798 мин)

Таким образом, пероральное поступление афлатоксина снижает интенсивность обменных процессов организма, показатели живой массы, морфологические параметры крови и негативно воздействует на печень, о чем свидетельствуют результаты исследований белкового и ферментативного профиля крови животных, также приводит к уменьшению количества витамина А в сыворотке крови животных. Установлено, что применение ретинола ацетата и цеолита на фоне воздействия афлатоксина В1 предотвращает негативные изменения в морфологическом составе крови и улучшает росто-весовые показатели, что благоприятно сказывается на качестве получаемой от данных животных продукции, поддерживает концентрацию витамина А на более высоком уровне и способствует предотвращению белкового дисбаланса, благоприятно

влияет на функциональное состояние печени кроликов, что способствует получению от них продукции хорошего качества. В ходе проведенного опыта установлено, что ретинола ацетат и цеолит улучшили морфо-биохимический статус у кроликов и стимулировали белковый обмен в их организме.

2.2.3.3 Показатели неспецифической резистентности кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита

Из рисунка 12 видно, что ФА у кроликов на 45 и 55 сут снизилась на 5,3 и 11,3% (группа АфВ1); на 3,4 и 9,5% (группа АфВ1 + в.А 175 МЕ); на 2,6 и 6,5% (группа АфВ1 + в.А 375 МЕ); на 1,4 и 2,9% (группа АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%) относительно группы БК. Известно, что ФА влияет на формирование иммунитета. В наших исследованиях результатом влияния ретинола ацетата и цеолита на организм кроликов явилось увеличение обсуждаемого показателя на 45 и 55 сут в шестой опытной группе на 2,7 и 6,2%.

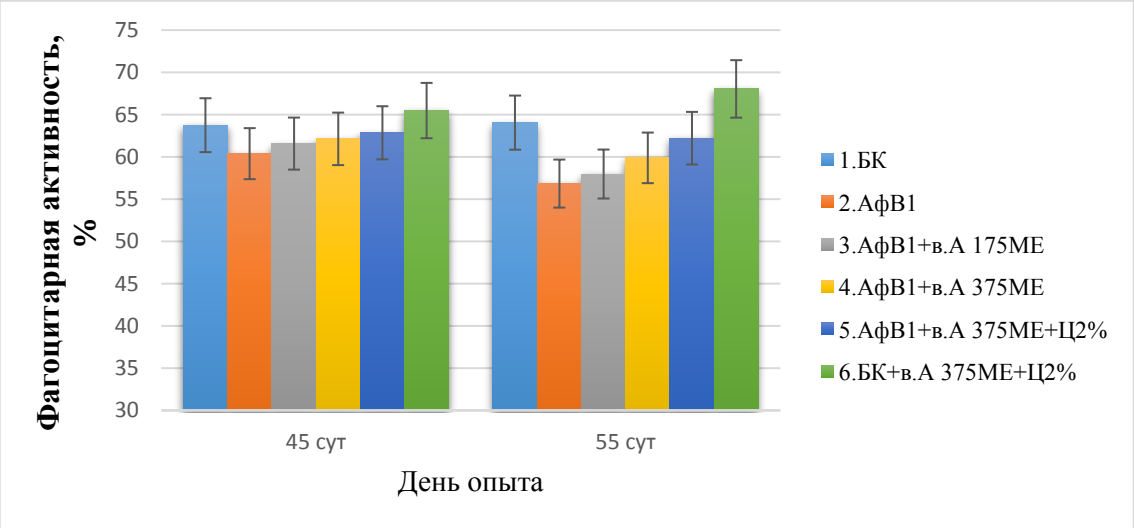

Рисунок 12 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарную активность кроликов

Зарегистрировали уменьшение показателей ФИ и ФЧ (Рис. 13 и 14) у животных на 45 и 55 сут опыта на 1,8 и 3,2% и 7,0 и 14,1% (группа АфВ1); на 1,5 и

2,6% и 4,9 и 11,8% (группа АфВ1 + в.А 175 МЕ); на 1,5 и 1,6% и 4,0 и 8,0% (группа АфВ1 + в.А 375 МЕ); на 0,3 и 0,5% и 1,7 и 3,4% (группа АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%), соответственно относительно группы БК. В шестой группе отметили изменения в сторону незначительного увеличения исследуемых показателей, так на 45 и 55 сут ФИ и ФЧ были выше таковых группы БК на 0,3 и 1,1 и 3,0 и 7,4%.

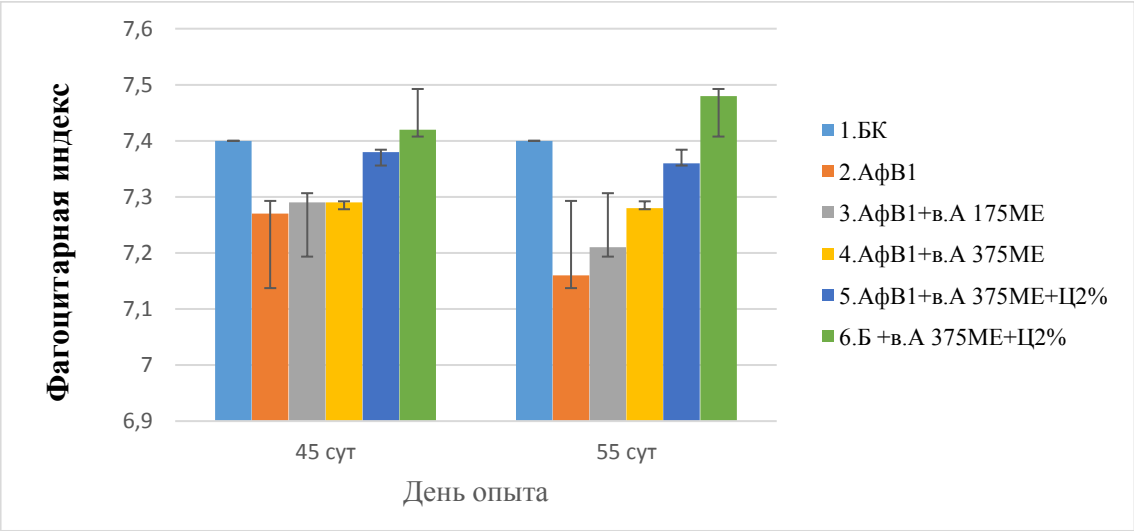

Рисунок 13 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарный индекс кроликов

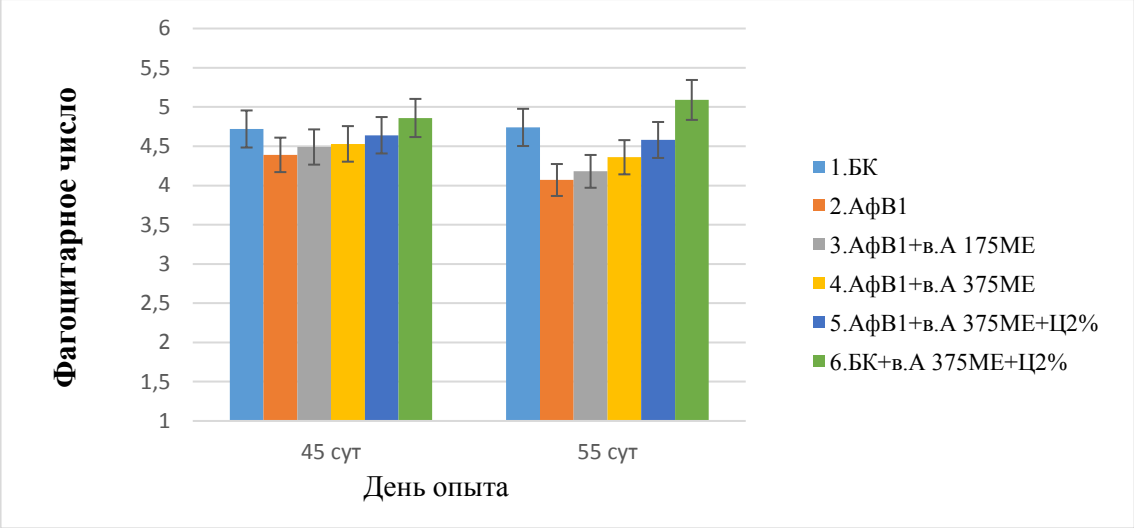

Рисунок 14 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарное число кроликов

Исследования показали, что ФЕ нейтрофилов снизилась (Рис. 15) на 45 и 55 сут на 16,3 и 29,2% ($p<0,05$) (группа АфВ1); на 12,4 и 25,3% (группа АфВ1 + в.А

175 МЕ); на 10,9 и 21,5% (группа АфВ1 + в.А 375 МЕ); 5,6 и 10,4% (группа АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%), соответственно относительно группы БК. В шестой группе данный показатель в указанный период был выше контрольных аналогов на 1,8 и 7,5%.

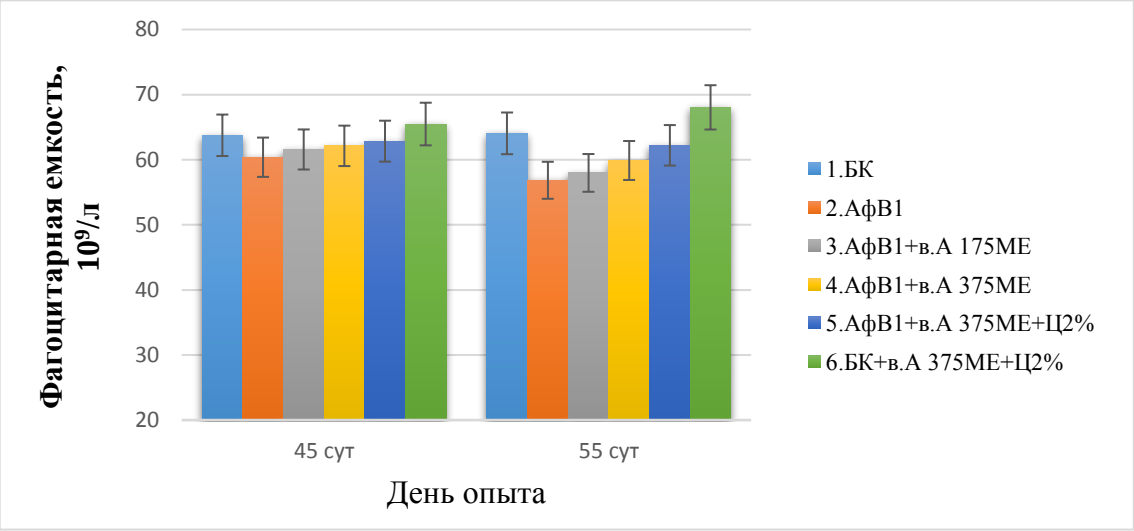

Рисунок 15 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарную емкость кроликов

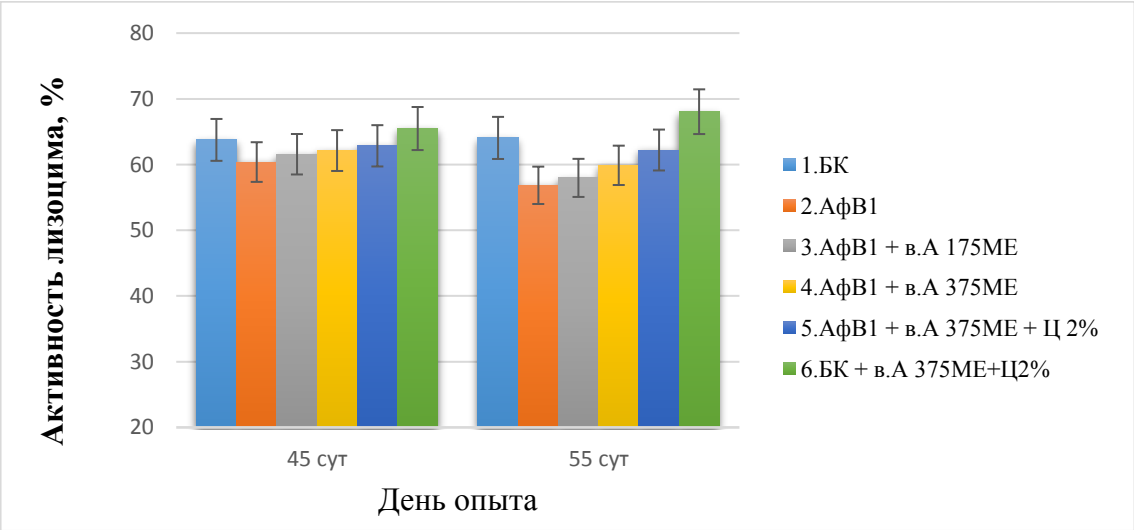

Рисунок 16 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на активность лизоцима кроликов

Из данных, представленных на рисунке 16 видно, что АЛ была меньше относительно группы БК на 45 и 55 сут на 11,7 и 20,5% ($p<0,05$) (группа АфВ1); на 7,5 и 15,7% (группа АфВ1 + в.А 175 МЕ); на 5,6 и 12,3% (группа АфВ1 + в.А 375

МЕ); на 3,2 и 8,8% (группа АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%), соответственно. В шестой грппе АЛ имела обратную тенденцию и была выше на 2,1 и 3,7% значений контрольной группы.

Таким образом, снижение показателей неспецифической резистентности кроликов во всех опытных группах с применением «токсичного корма» вероятно связано с нарушением биосинтеза белка, снижением циркулирующих фагоцитов, выработкой определенных клеточных компонентов под воздействием афлатоксина В1.

Результаты опыта, проведенного в условиях вивария на лабораторных кроликах свидетельствуют, что длительное поступление афлатоксина В1 с кормом вызывает интоксикацию кроликов, характеризующуюся нарушением морфологического и биохимического состава крови, показателей неспецифической резистентности организма. Проведенные исследования показали, что введение в рацион животных ретинола ацетата с профилактической целью на фоне экспериментального афлатоксикоза способствует нормализации вышеуказанных показателей. Наибольший эффект при этом достигается при совместном применении ретинола ацетата в количестве 375 МЕ/кг живой массы и цеолита в дозе 2% от рациона. Основываясь на результатах проведенного опыта можно констатировать, что применение ретинола ацетата и цеолита повышает устойчивость организма и стимулирует факторы неспецифической резистентности кроликов.

2.2.3.4 Оценка остаточных количеств афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита

После проведения декапитации животных из каждой группы в конце эксперимента отобрали образцы биоматериала с целью установления в них

остаточного содержания афлатоксина В1. Результаты исследования представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Содержание афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани кроликов при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=3)

Группа кроликов	Кол-во афлатоксина В1, мкг/кг	
	Печень	Мышечная ткань
1.БК	не обнаружено	не обнаружено
2.АфВ1	2,88±0,10	0,72±0,08
3.АфВ1 + в.А 175 МЕ	2,78±0,08	0,70±0,07
4.АфВ1 + в.А 375 МЕ	2,51±0,12	0,64±0,08
5.АфВ1 + в.А 375 МЕ + Ц 2%	0,99±0,11***	не обнаружено
6.БК + в.А 375 МЕ + Ц 2%	не обнаружено	не обнаружено

Примечание: **P < 0,01; ***P < 0,001

При хроматографическом анализе было установлено, что микотоксин обнаружился в пробах печени, полученных от кроликов 2, 3, 4 и 5 групп, при этом максимальное содержание выявили во 2 группе. Хроматограммы образцов экстракта печени кроликов опытных групп представлены на рисунках 17 и 18.

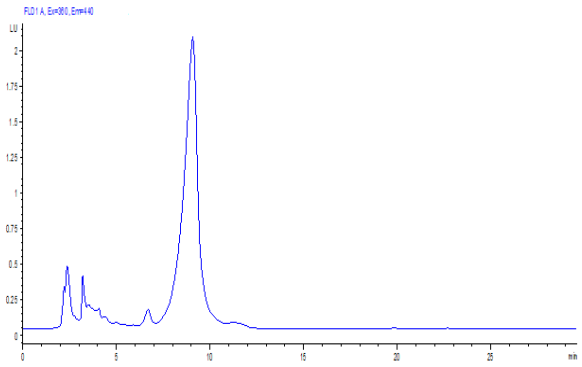

Рисунок 17 - Хроматограмма образца экстракта печени кроликов второй группы, афлатоксин В1 (t=9,080 мин)

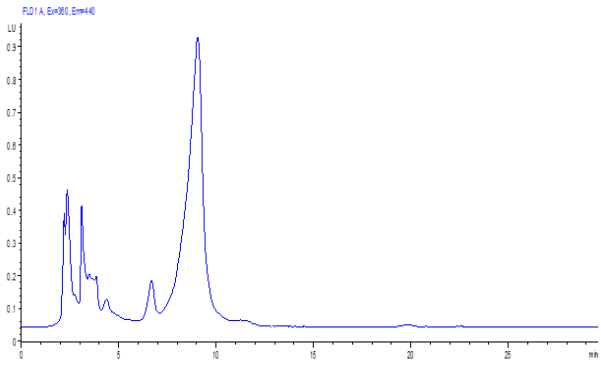

Рисунок 18 - Хроматограмма образца экстракта печени кроликов пятой группы, афлатоксин В1 (t=9,048 мин)

Из таблицы 9 видно, что уровень определяемого микотоксина в печени животных третьей и четвертой групп был меньше на 3,5 и 12,8%, соответственно, по сравнению с данными второй группы. В группе животных, получавших одновременно ретинола ацетат и цеолит, содержание обсуждаемого аналита в печени было ниже группы затравки на 65,6% ($p<0,001$). Остаточные количества афлатокина в экстрактах печени, полученных от животных первой и шестой групп не обнаружены.

Аналогичные данные были получены при исследовании количества афлатоксина в мышечной ткани. Так, наибольшая концентрация микотоксина была обнаружена во второй группе кроликов. Уровень токсина в третьей группе отличался незначительно от данных второй группы. Концентрация афлатоксина в четвертой группе была ниже на 11,1% в сравнении с данными группы затравки. При этом в первой, пятой и шестой группах кроликов остаточные количества афлатоксина не выявлены.

Данные полученные при хроматографическом анализе экстарктов биоматериала показывают, что введение в рацион кроликов ретинола ацетата и цеолита при смоделированном афлатоксикозе предотвращает накопление афлатоксина в органах животных.

2.2.4 Результаты научно-хозяйственных испытаний на поросятах

Так как профилактическое действие ретинола ацетата и цеолита было подтверждено результатами опыта на предыдущих этапах исследований, где наилучшие результаты по профилактике афлатоксикоза В1 были получены при их совместном применении, была проведена следующая серия опытов в условиях КФХ «Рыжов Ю.П.» Пестречинского района Республики Татарстан.

В условиях крестьянско-фермерского хозяйства сформировали 6 групп из сельскохозяйственных животных (поросята, порода крупная белая), живой вес

которых находился в диапазоне от 24 до 27 кг по десять голов в каждой, согласно схеме:

1) первая группа – биологический контроль, основной рацион (далее БК);

2) вторая группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (150 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки) (далее АфВ1);

3) третья группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (150 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки) и ретинола ацетат (240 МЕ/кг живой массы в течение 55 суток) (далее АфВ1 + в.А 240 МЕ);

4) четвертая группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (150 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки) и ретинола ацетат (480 МЕ/кг живой массы в течение 55 суток) (далее АфВ1 + в.А 480 МЕ);

5) пятая группа – основной рацион, контаминированный афлатоксином В1 (150 мкг/кг корма, в период с 30-х по 55 сутки), ретинола ацетат (480 МЕ/кг живой массы в течение 55 суток) и цеолит (2% от рациона, в период с 30-х по 55 сутки) (далее АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%);

6) шестая группа – основной рацион, ретинола ацетат (480 МЕ/кг живой массы в течение 55 суток) и цеолит (2% от рациона, в период с 30-х по 55 сутки) (далее БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%).

Длительность опыта составила 55 дней. Забор крови для проведения исследований осуществляли из хвостовых сосудов. Эффективность применения ретинола ацетата и цеолита определяли по клиническим признакам, значениям общей живой массы, результатам гемато-биохимических исследований, значениям показателей неспецифической резистентности поросят, а также по органолептическим, бактериологическим и физико-химическим показателям мяса опытных животных.

2.2.4.1 Санитарно-гигиенические характеристики условий содержания поросят в условия производственного опыта

Опытных поросят содержали в станках, расположенных в помещении прямоугольной формы, обеспеченном естественным, искусственным освещением, а также принудительной вытяжной вентиляцией по 10 голов в группе. Полы были изготовлены из бетона и имели слив. В каждом станке была установлена кормушка и поилка. Навоз из помещения удаляли ежедневно.

Микроклимат помещений для содержания поросят характеризовался параметрами, находящимися в пределах нормативных значений (Табл. 10). А именно: температура воздуха в помещении, где содержались опытные поросята была равной (22,7±0,64) ºС, относительная влажность составила (68,5±1,32)%, среднее значение скорости движения воздуха в период проведения эксперимента находилось на уровне (0,19±0,02) м/с. Концентрация вредных газов (NH_3, H_2S, CO_2) в воздухе не превышала рекомендуемых показателей.

Указанные данные подтверждают оптимальные условия содержания подопытных поросят на протяжении всего эксперимента, показатели микроклимата в нашем случае соответствовали требованиям, указанным в РД АПК 1.10.02.04-12.

Таблица 10 – Параметры микроклимата помещений для содержания поросят

Показатель, единица измерения	Величина показателя
Температура, º С	22,7±0,64
Относительная влажность, %	68,5±1,32
Концентрация аммиака, мг/м^3	8,8±0,73
Концентрация сероводорода, мг/м^3	5,6±0,68
Концентрация углекислоты, %	0,15±0,04
Скорость движения воздуха, м/с	0,19±0,02

Кормление осуществляли полнорационным комбикормом для молодняка свиней произведенным ООО «Родник», включающим в свой состав отруби

пшеничные, ячмень, овёс, шрот подсолнечный, дрожжи кормовые, известняковая мука, соль поваренная, фунгисорб, трикальций фосфат, премикс КС-4. Питательность рациона представлен на рисунке 19.

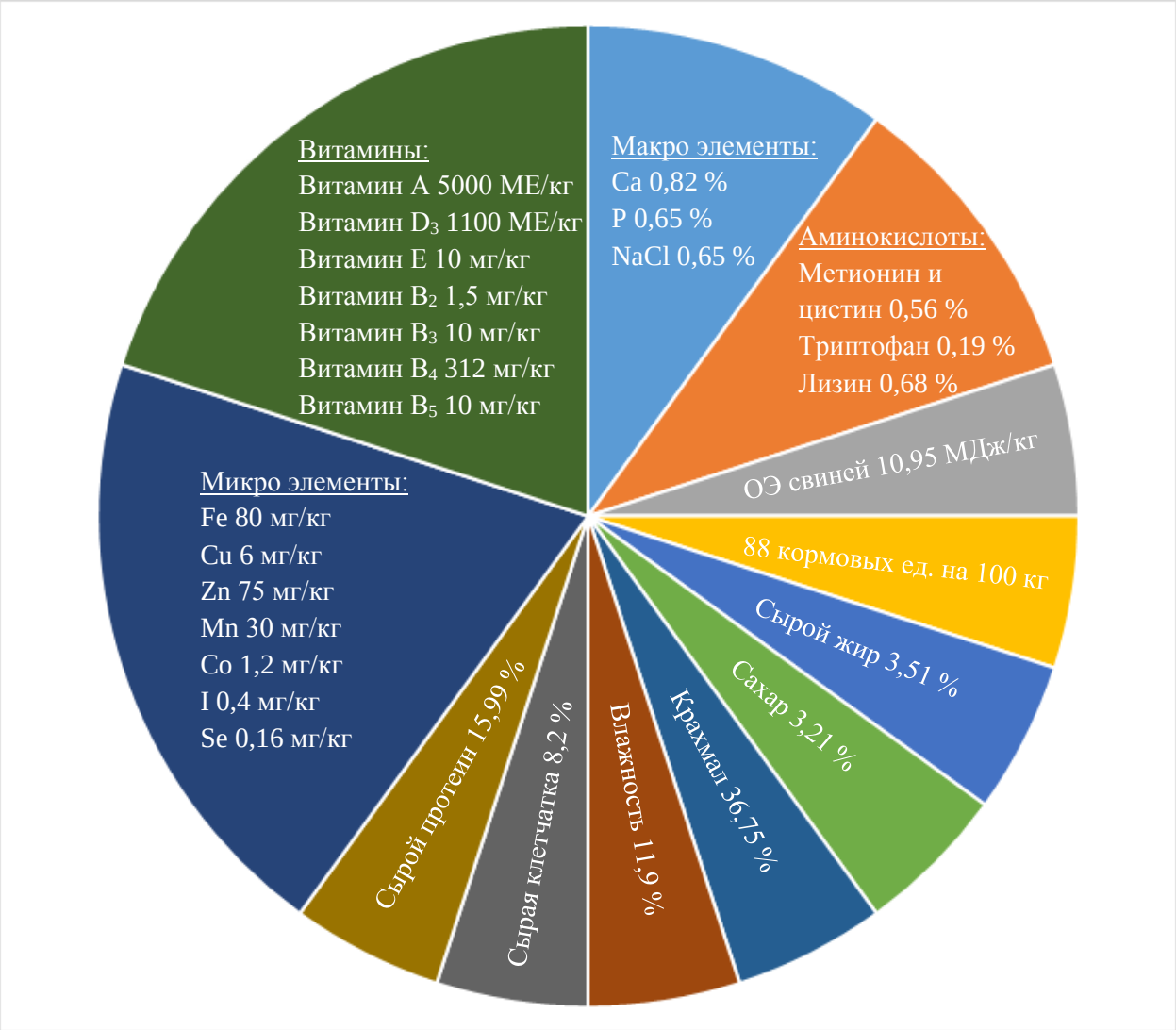

Рисунок 19 – Питательность рациона для кормления свиней

Представленный рацион удовлетворял потребности животных в питательных веществах, марко- и микроэлементах и витаминах.

2.2.4.2 Морфо-биохимические показатели крови поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита

В результате наблюдений за клиническим состоянием поросят второй группы отмечено понижение аппетита, угнетение общего состояния, расстройство ЖКТ в виде диареи, отставание в росте. У поросят, которым для профилактики токсикоза давали ретинола ацетат, клинические признаки интоксикации проявлялись на 3-6 сут позже по сравнению с группой, получавшей «токсичный» корм. Лучшие результаты клинических исследований были отмечены в 5 группе, где применяемые средства профилактики способствовали уменьшению проявления признаков, характерных для афлатоксикоза.

На начало опытов поросята всех опытных групп имели схожие значения показателя живой массы (Табл. 11). К концу эксперимента отметили, что поросята первой и шестой групп набирали живую массу быстрее по сравнению с животными, рацион которых был загрязнен афлатоксином.

Таблица 11 – Динамика живой массы поросят при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (кг) (n=10)

Сроки исследования, сут	Группа поросят					
	1.БК	2.АфВ1	3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%
1	26,23 ±0,68	25,52 ±0,60	26,47 ±0,64	24,80 ±0,52	25,66 ±0,41	25,91 ±0,57
30	38,38 ±0,73	37,97 ±0,69	38,26 ±0,75	37,07 ±0,68	37,57 ±0,64	38,15 ±0,70
55	54,23 ±0,78	50,82 ±0,71**	51,28 ±0,78**	50,77 ±0,63**	52,78 ±0,67	55,95 ±0,73

Примечание: *P < 0,05; **P < 0,01

Наибольший прирост живой массы установили у поросят шестой группы, которая превосходила значения группы биологического контроля на 12,3%. Аналогичный показатель для пятой группы был ниже контроля на 4,0%. В группе животных, содержавшихся на токсичном рационе (группа АфВ1) живая масса была ниже на 18,9%.

Более показательным параметром токсического действия афлатоксина и профилактического действия ретинола ацетата и цеолита являются изменения гематологических показателей, представленных в таблице 12.

Таблица 12 – Морфологические показатели крови поросят при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=10)

Группа поросят	Показатель		
	Лейкоциты, 10^9 /л	Эритроциты, 10^{12} /л	Гемоглобин, г/л
1	2	3	4
	Исходные данные		
1.БК	15,08±0,71	5,91±0,16	113,54±1,39
2.АфВ1	14,56±0,60	5,68±0,20	107,28±1,88
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	15,12±0,62	5,71±0,17	106,65±1,82
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	14,87±0,79	5,64±0,21	109,14±2,01
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	14,93±0,57	5,75±0,18	107,73±1,74
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	15,04±0,66	5,82±0,23	108,36±1,56
	35 сут		
1.БК	14,95±0,68	5,81±0,15	110,46±1,71
2.АфВ1	14,08±0,66	5,39±0,17	104,57±1,69
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	14,71±0,63	5,47±0,15	108,74±1,53
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	14,57±0,69	5,44±0,16	112,82±1,76
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	14,68±0,77	5,84±0,21	113,20±1,92
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	15,11±0,52	5,87±0,19	110,61±1,85
	45 сут		
1.БК	15,10±0,57	5,87±0,20	108,23±1,90
2.АфВ1	12,69±0,63*	4,79±0,21*	101,24±1,52*
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	13,82±0,68	5,05±0,22	103,42±1,59
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	13,93±0,71	5,09±0,19*	106,79±1,66

Продолжение таблицы 12

1	2	3	4
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	14,38±0,81	5,63±0,22	109,10±1,87
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	15,19±0,54	5,96±0,17	112,85±2,08
	55 сут		
1.БК	15,05±0,68	5,90±0,17	109,78±1,75
2.АфВ1	11,88±0,58*	4,27±0,18**	90,31±1,57**
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	12,98±0,72	4,61±0,22*	98,48±1,81*
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	13,04±0,70	4,67±0,18**	103,50±1,70
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	13,85±0,61	5,38±0,20	105,05±2,10
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	15,33±0,63	6,10±0,19	116,62±1,93

Примечание: *Р < 0,05; **Р < 0,01

По результатам исследований установили, что в группе поросят, получавших «токсичный» корм, на 35, 45 и 55 сут опыта содержание эритроцитов и лекоцитов уменьшалось от первоначальных данных на 5,1; 15,6 (р<0,05) и 24,8% (р<0,01) и на 3,3; 12,8 и 18,4% (р<0,05), соотвественно; гемоглобина – на 3,1; 6,9 и 15,8% (р<0,01), соответственно; относительно первой группы происходило понижение эритроцитов – на 7,2; 18,4 (р<0,05) и 27,6% (р<0,01); лейкоцитов – на 5,8; 16,0 (р<0,05) и 21,1% (р<0,05); гемоглобина – на 6,5; 7,9 (р<0,05) и 17,7% (р<0,01), соответственно.

В третьей группе поросят наблюдали снижение количества эритроцитов на 35, 45 и 55 сут на 4,2; 11,5 и 19,3% (р<0,05); лейкоцитов – на 2,7; 8,6 и 14,1%, соответственно, от первоначальных данных; эритроцитов – на 5,9; 13,9 (р<0,05) и 21,8% (р<0,05); лейкоцитов – на 1,6; 8,5 и 13,8%, соответственно, от первой группы. В отношении содержания гемоглобина наблюдали обратную тенденцию: уровень изучаемого показателя на 35 сут опыта незначительно повысился от исходных данных, однако был ниже аналогичного показателя группы биологического контроля; на 45 и 55 сут отмечали понижение гемоглобина от первоначальных данных на 3,0 и 7,7% (р<0,05) и относительно группы контроля – на 4,4 и 10,3% (р<0,05), соответственно.

У животных четвертой группы количество эритроцитов на 35, 45 и 55 сут уменьшалось на 3,5; 9,7 и 17,2% (p<0,05); лейкоцитов – на 2,0; 6,3 и 12,3%, соответственно, от исходных данных и соответственно - на 6,3; 13,3 (p<0,05) и 20,8% (p<0,01) и - на 2,5; 7,8 и 13,4% по сравнению с группой контроля. Содержание гемоглобина к 35 сут незначительно увеличилось; на 45 и 55 сут наблюдали достоверное уменьшение данного показателя на 2,2 и 5,2% от первоначальных данных и соответственно на 1,3 и 5,7% от группы контроля.

При профилактировании афлатоксикоза ретинола ацетатом и цеолитом количество эритроцитов на 35 сут не имело отличий от значений 1 группы, на 45 сут отметили незначительное снижение на 2,1% и к концу опыта обсуждаемый показатель снизился на 6,4% от фона и от контроля на 45 сут - на 4,1% и на 55 сут – на 8,8%. Содержание лейкоцитов на 35, 45 и 55 сут исследования также имело тенденцию к уменьшению, однако эти изменения были незначительны и составили 1,7; 3,7 и 7,2%, соответственно, а если сравнивать с 1 группой - на 1,8; 4,8 и 8,0%, соответственно. Уровень гемоглобина на начало опыта (35 и 45 сут) был несколько выше в сравнении с фоном и в сравнении с биологическим контролем; на 55 сут отмечали уменьшение изучаемого показателя на 2,5% в сравнении с исходными данными и на 4,3% в сравнении с контролем.

Как видно из данных, представленных в таблице 12, у поросят шестой группы существенных изменений морфологических показателей не наблюдали, при этом на 55 сут отметили незначительный рост обсуждаемых показателей. Так, количество эритроцитов к указанному сроку увеличилось относительно фона на 4,8%, лейкоцитов – на 1,9%, гемоглобина – на 7,6%; относительно контрольных аналогов – на 3,4; 1,9 и 6,2%, соответственно.

Биохимичекие показатели крови поросят являлись показателем результативности применяемых нами средств профилактики при смоделированном афлатоксикозе. Полученные значения исследований представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Содержание общего белка и белковых фракций в сыворотки крови поросят при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=10)

Группа поросят	Показатель				
	Общий белок, г/л	Фракции белка, %			
		Альбумины	α-глобулины	β-глобулины	γ-глобулины
1	2	3	4	5	6
Исходные данные					
1.БК	61,48±1,35	42,26±0,85	19,68±0,46	19,81±0,44	18,25±0,42
2.АфВ1	60,55±1,58	41,28±1,04	20,43±0,51	19,76±0,43	18,53±0,44
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	59,84±1,44	42,57±0,88	18,77±0,53	19,62±0,46	19,04±0,50
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	61,72±1,50	42,83±0,94	18,67±0,56	19,66±0,50	18,84±0,46
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	60,53±1,10	41,72±1,22	19,31±0,61	20,04±0,54	18,93±0,57
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	60,17±1,26	41,90±1,07	20,11±0,42	19,58±0,47	18,41±0,51
35 сут					
1.БК	61,14±1,39	42,49±0,93	19,43±0,54	19,72±0,50	18,36±0,43
2.АфВ1	57,27±1,42	40,27±0,84	20,96±0,57	20,57±0,42	18,20±0,40
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	58,33±1,40	41,88±1,01	19,11±0,60	20,21±0,51	18,80±0,46
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	60,59±1,27	42,36±0,98	19,02±0,52	19,99±0,50	18,63±0,44
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	61,85±1,28	41,92±1,10	19,15±0,48	19,96±0,46	18,97±0,51
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	61,58±1,48	41,74±0,83	20,05±0,41	19,68±0,46	18,53±0,39
45 сут					
1.БК	61,79±1,56	42,38±0,91	19,56±0,43	19,65±0,47	18,41±0,40
2.АфВ1	50,73±1,26 **	37,92±0,89	22,66±0,51	21,56±0,45	17,86±0,44
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	52,89±1,40 *	40,10±0,90	20,53±0,41	20,85±0,54	18,52±0,41

Продолжение таблицы 13

1	2	3	4	5	6
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	55,65±1,54*	41,19±0,98	19,72±0,59	20,63±0,52	18,46±0,47
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	59,27±1,33	41,37±1,06	19,53±0,56	20,28±0,61	18,82±0,48
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	62,84±1,48	41,42±0,84	20,21±0,44	19,70±0,40	18,67±0,38
55 сут					
1.БК	62,24±1,31	41,56±0,94	20,09±0,52	19,77±0,49	18,58±0,42
2.АфВ1	44,98±1,42**	36,19±0,88*	23,28±0,41*	23,08±0,40**	17,45±0,39
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	47,81±1,57**	38,52±1,00	21,10±0,62	22,16±0,52	18,22±0,43
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	50,48±1,19**	39,71±0,96*	20,43±0,45	21,63±0,56	18,23±0,47
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	56,19±1,21*	40,17±1,15	20,36±0,63	20,76±0,42	18,71±0,51
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	63,74±1,11	41,23±0,82	20,14±0,55	19,65±0,37	18,98±0,42

Примечание: *Р < 0,05; **Р < 0,01

Как видно из данных таблицы, во второй группе поросят на 35, 45 и 55 сут опыта было отмечено снижение общего белка на 5,4; 16,2 (р<0,01) и 25,7% (р<0,01); альбуминов – на 2,5; 8,1 и 12,3%, соответственно, от первоначальных данных; общего белка – на 6,3; 17,9 (р<0,01) и 27,7% (р<0,01) и альбуминов – на 5,2; 10,5 и 14,9%, соответственно, относительно группы контроля.

Содержание α и β-глобулинов по сравнению с исходными данными увеличилось на 35, 45 и 55 сут на 2,6; 10,9 и 14,0% и на 4,1; 9,1 и 16,8%, соответственно; относительно группы биологического контроля – на 7,9; 15,9 и 15,9% и на 4,3; 9,7 и 16,7%, соответственно. Концентрация фракции γ-глобулинов

уменьшалась в исследуемые сроки на 1,8; 3,6 и 5,8%, соответственно, от фона и по отношению к контрольным аналогам на 0,9; 3,0 и 6,1%, соответственно.

В третьей группе животных на 35, 45 и 55 сут наблюдали понижение общего белка от исходных данных на 2,5; 11,6 ($p<0,05$) и 20,1% ($p<0,01$); альбуминов – на 1,6; 5,8 и 9,5%, соответственно, и относительно контрольной группы – на 4,6; 14,4 ($p<0,05$) и 23,2% ($p<0,01$) и на 1,4; 5,4 и 9,5%, соответственно. Изучая содержание α и β-глобулинов отметили их незначительное отклонение от 2 группы. Так на 35, 45 и 55 сут обсуждаемые показатели увеличились на 1,8; 9,4 и 12,4% и на 3,0; 6,3 и 13,0% от фона и в сравнении с группой контроля – на 1,7; 5,0 и 5,0% и на 2,5; 6,1 и 12,1%, соответственно. Содержание фракции γ-глобулинов не имело существенных различий от значений 2 группы и при завершении опыта понизилось от исходных данных и от контрольной группы на 4,3 и 1,9%.

Снижение содержания общего белка было зарегистрировано и в четвертой группе на 35, 45 и 55 сут на 1,8; 9,8 ($p<0,05$) и 18,2% ($p<0,01$); альбуминов – на 1,1; 3,8 и 7,3% соответственно относительно фоновых значений и относительно группы контроля соответственно - на 0,9; 9,9 ($p<0,05$) и 18,9% ($p<0,01$) и на 0,3; 2,8 и 6,7%. Содержание α-глобулинов имело тенденцию к росту в данные сроки исследований на 1,9; 5,6 и 9,4% соответственно от первоначальных данных и относительно биологического контроля в первые сроки опыта был ниже на 2,1%; а в последующие сроки отмечали увеличение на 0,8 и 1,7%, соответственно. Концентрация β-глобулинов на 35, 45 и 55 сут увеличилась на 1,7; 4,9 и 10,0% от фона и на 1,4; 5,0 и 9,4% в сравнении с группой биологического контроля. Концентрация γ-глобулинов под действием микотосина уменьшалась относительно исходных цифр на 1,1; 2,0 и 3,2%, соответственно, и относительно контроля на 35 и 45 сут была выше на 1,5 и 0,3%, на 55 сут снизилась на 1,9%.

В пятой группе животных на 35 сут эксперимента отмечали незначительное повышение содержания общего белка, которое составило 2,2% относительно первоначальных данных и 1,2% относительно контрольной группы, на 45 и 55 сут зарегистрировали понижение исследуемого показателя на 2,1 и 7,2% соответственно от фона и на 4,1 и 9,7% ($p<0,05$) соответственно от группы

биологического контроля. Процентное содержание альбуминов на 35 сут было выше исходного значения на 0,5% и ниже значения группы биологического контроля на 1,3%, на 45 и 55 сут наблюдали уменьшение изучаемого показателя на 0,8 и 3,7% соответственно в сравнении с исходными данными и соответственно – на 2,4 и 3,3% в сравнении с контролем. Изменения в содержании фракции α, β и γ-глобулинов на 35, 45 и 55 сут относительно фона и группы биологического контроля были незначительны и находились в пределах от 0,2 – 5,4%.

Как видно из таблицы 13 количество общего белка в сыворотке крови животных на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (группа 6), по сравнению с исходными значениями постепенно увеличивалось и к 55 сут составило 5,9%; по сравнению с контрольными данными (группа 1) – 2,4%. Концентрация γ-глобулинов незначительно повышалась на 55 сут относительно фона на 3,1% и относительно контрольных аналогов на 2,2%. В пересчете на количество общего белка к концу исследований на 55 сут наблюдали повышение количества альбумина, α, β и γ-глобулинов на 4,2; 6,1; 6,4 и 9,2%, соответственно. Следует отметить, что полученные результаты находились в интервале нормативных значений.

О защитном действии на организм ретинола ацетата и цеолита также свидетельствует динамика содержания глюкозы (Табл. 14).

Так, если во второй группе животных на протяжении всего опыта наблюдали уменьшение показателя глюкозы на 4,1; 12,0 и 19,9%, соответственно, относительно исходных данных и на 1,1; 8,4 и 16,9%, соответственно, относительно контрольной группы, то в группах с применением ретинола ацетата наблюдалась обратная тенденция. К 35 сут уровень глюкозы в данных группах повысился относительно фона на 2,9 и 5,3% и относительно группы контроля – на 2,9 и 4,2%, соответственно. На 45 и 55 сут изучаемый показатель в третьей группе уменьшился на 7,1 и 13,7% от первоначальных данных и на 6,2 и 13,1% от группы биологического контроля.

Таблица 14 – Содержание глюкозы и показатели активности АСТ и АЛТ сыворотки крови поросят при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=10)

Группа поросят	Показатель		
	Глюкоза, ммоль/л	АСТ, Е/л	АЛТ, Е/л
1	2	3	4
Исходные данные			
1.БК	4,52±0,17	42,44±1,00	32,53±0,89
2.АфВ1	4,68±0,20	43,57±1,11	33,38±0,84
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	4,54±0,18	41,85±1,16	32,29±0,91
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	4,49±0,19	42,40±0,97	32,95±0,86
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,41±0,17	41,68±1,21	31,54±0,96
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,60±0,20	43,10±0,93	33,05±0,80
35 сут			
1.БК	4,54±0,19	42,78±1,22	32,60±0,82
2.АфВ1	4,49±0,17	45,78±1,12	36,21±0,87
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	4,67±0,16	43,74±1,03	34,44±0,91
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	4,73±0,16	43,84±1,10	34,17±0,84
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,66±0,18	41,92±1,08	31,65±0,91
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,64±0,19	42,86±0,96	32,37±0,77
45 сут			
1.БК	4,50±0,17	42,65±1,03	32,50±0,84
2.АфВ1	4,12±0,19	48,25±1,18*	40,80±0,91**
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	4,22±0,21	45,61±1,01*	37,90±0,96**
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	4,47±0,16	44,64±1,22	35,90±0,80
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,62±0,19	42,25±0,97	32,66±0,82
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,70±0,18	42,73±0,91	32,55±0,75
55 сут			
1.БК	4,51±0,18	42,81±1,05	32,77±0,80
2.АфВ1	3,75±0,19	50,22±1,10**	47,20±0,83**
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	3,92±0,16	47,97±1,21**	44,73±0,91**
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	4,20±0,20	46,91±1,03*	42,17±0,85**
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,45±0,17	43,05±1,16	33,80±0,97

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	4,74±0,21	43,06±0,95	32,88±0,80

Примечание: *Р < 0,05; **Р < 0,01

В четвертой группе к 45 сут содержание глюкозы было на уровне исходных данных и контрольной группы, на 55 сут наблюдали небольшое понижение от фона и группы биологического контроля на 6,5 и 6,9%, соответственно.

В группе животных, где совместно с афлатоксином применяли испытуемые средства профилактики, рассматриваемый показатель в конце испытаний не имел существенных отклонений от исходной и контрольной цифры

У животных шестой группы данный параметр имел более высокие значения от фона на 0,9; 2,2 и 3,1%, и контрольных аналогов – на 2,2; 4,4 и 5,1%, соответственно.

Были отмечены определенные изменения и в содержании в крови поросят печеночных ферментов (Табл. 14). Активность ферментов аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в группе животных, получавших «токсичный» корм, на 35, 45 и 55 сут была выше в сравнении с фоном на 5,1; 10,7 (р<0,05) и 15,3% (р<0,01) и на 8,5; 22,2 (р<0,01) и 41,4% (р<0,01), соответственно, и относительно контрольных данных (группа БК) – на 7,0; 13,1 (р<0,05) и 17,3% (р<0,01) и на 11,1; 25,5 (р<0,01) и 44,0% (р<0,01), соответственно.

Активность обсуждаемых ферментов увеличилась (группа АфВ1 + в.А 240 МЕ) в указанные сроки и составила 4,5; 9,0 (р<0,05) и 14,6% (р<0,01) и 6,7; 17,4 (р<0,01) и 38,5% (р<0,01), соответственно, от первоначальных значений и по сравнению с контрольной группой - 2,2; 6,9 и 12,1% (р<0,05) и 5,6; 16,6 (р<0,01) и 36,5% (р<0,01), соответственно.

При исследовании ферментативного профиля у поросят четвертой группы регистрировали повышение активности АСТ и АЛТ на 35, 45 и 55 сут опыта на 3,4; 5,3 и 10,6% (р<0,05) и на 3,7; 9,0 и 28,0% (р<0,01), соответственно, относительно

первоначальных значений и в сравнении с биологическим контролем - на 2,5; 4,7 и 9,6% (p<0,05) и на 4,8; 10,5 и 28,7% (p<0,01), соответственно.

В пятой группе животных активность ферментов АСТ и АЛТ увеличилась на 35, 45 и 55 сут исследований на 0,6; 1,4 и 3,3% и на 0,4; 3,6 и 7,2%, соответственно, от фона и относительно контроля АСТ был ниже на 35 и 45 на 2,0 и 0,9%, соответственно, к 55 сут отмечали увеличение на 0,6 %; АЛТ на 35 сут был ниже на 2,9%; на 45 и 55сут повысился на 0,5 и 3,1%, соответственно.

У поросят шестой группы каких-либо изменений обсуждаемых показателей относительно фона и контрольных аналогов не наблюдали.

Как видно из рисунка 20, на котором представлена динамика изменения содержания витамина А в сыворотке крови поросят, высокий уровень обсуждаемого показателя поддерживался у животных в начальный период эксперимента (30 сут) (группа 3, 4 и 5), что связано с дополнительным введением в рацион этих животных ретинола ацетата. В то же время в первой, второй и шестой группах в указанный период исследований уровень рассматриваемого показателя менялся незначительно.

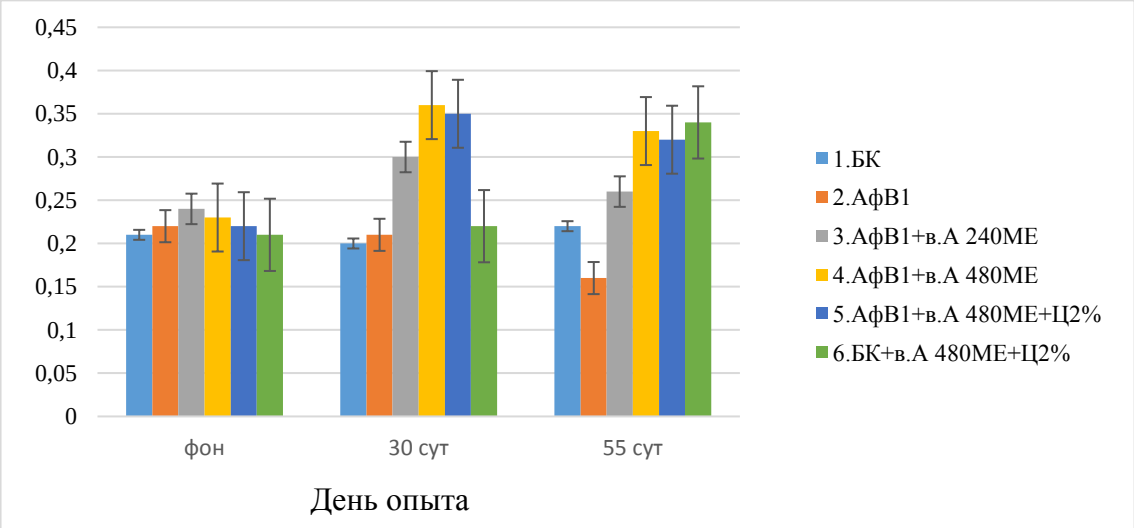

Рисунок 20 – Содержание витамина А в сыворотке крови поросят (мкг/мл) (n=10)

Поступление афлатоксина В1 в течение последующих 25 сут привело к снижению содержания витамина А в сыворотке крови поросят второй группы на

55 сут опыта относительно исходных данных и контрольных аналогов на 27,3%. Количество витамина А в крови животных в группах, с применением профилактирующих средств (группа 3, 4 и 5) и в присутствии микотоксина было выше исходных цифр на момент завершения эксперимента в 1,1; 1,4 и 1,5 раз соответственно; в сравнении с контрольными цифрами - в 1,2; 1,5 и 1,5 раза соответственно. Хроматограммы экстрактов сыворотки крови поросят второй и пятой групп представлена на рисунке 21 и 22.

Отметили, что количество витамина А в сыворотке крови у поросят шестой опытной группы в результате применения ретинола ацетата и цеолита, повысилось к концу опыта относительно контрольных сверстников и фоновых значений в 1,6 раз. Данные изменения не выходили за пределы физиологических норм.

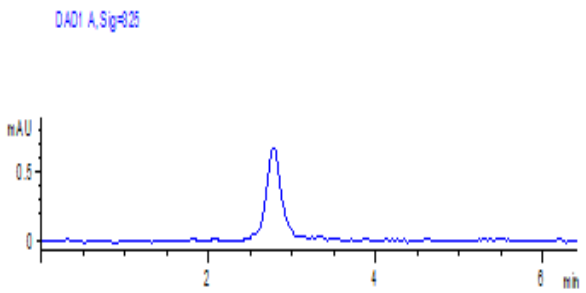

Рисунок 21 - Хроматограмма образца экстракта сыворотки крови поросят второй группы, витамин А (t=2,783 мин)

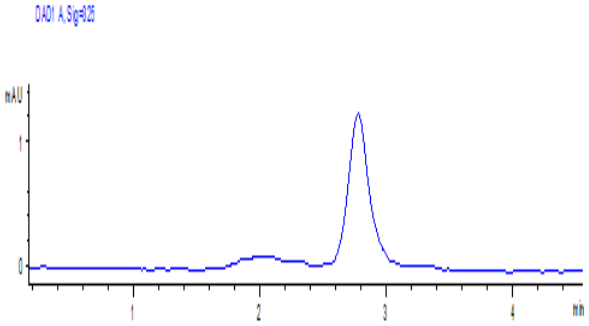

Рисунок 22 - Хроматограмма образца экстракта сыворотки крови поросят пятой группы, витамин А (t=2,777 мин)

Таким образом, негативное влияние АфВ1 отражается на гематологических значениях крови поросят, нанося разрушительный процесс в кроветворных органах, выражается в снижении интенсивности обменных процессов. В то же время введение в рацион ретинола ацетата препятствовало проявлению данных изменений, а применение цеолита при включении в рацион совместно с ретинола ацетатом оказывало благоприятное воздействие на морфологический статус

поросят, на показатели белкового обмена и динамику содержания глюкозы и витамина А, также способствовало нормализации ферментативного профиля крови животных, что предрасполагает к получению качественной продукции от данного вида животных. Испытываемые нами средства профилактики афлатоксикоза (ретинола ацетат и цеолит) показали существенный положительный эффект на обсуждаемые параметры. Высокий уровень белка и белковых фракций в сыворотке крови поросят шестой группы позволяет утверждать, что введение в рацион ретинола ацетата и цеолита активизирует защитные механизмы организма. Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о защитном действии на организм ретинола ацетата при афлатоксикозах, усиливающемся при совместном применении с цеолитом.

2.2.4.3 Показатели неспецифической резистентности поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита

Из рисунка 23 видно, что ФА у поросят снизилась на 45 и 55 сут на 5,1 и 9,5% (группа АфВ1); на 3,2 и 8,3% (группа АфВ1 + в.А 240 МЕ); на 2,5 и 7,2% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ) и на 1,1 и 2,2% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%) относительно группы БК. Добавление в рацион поросят ретинола ацетата и цеолита благоприятно отразилось на показателе ФА, который был выше 3,2 и 6,5% контрольных аналогов.

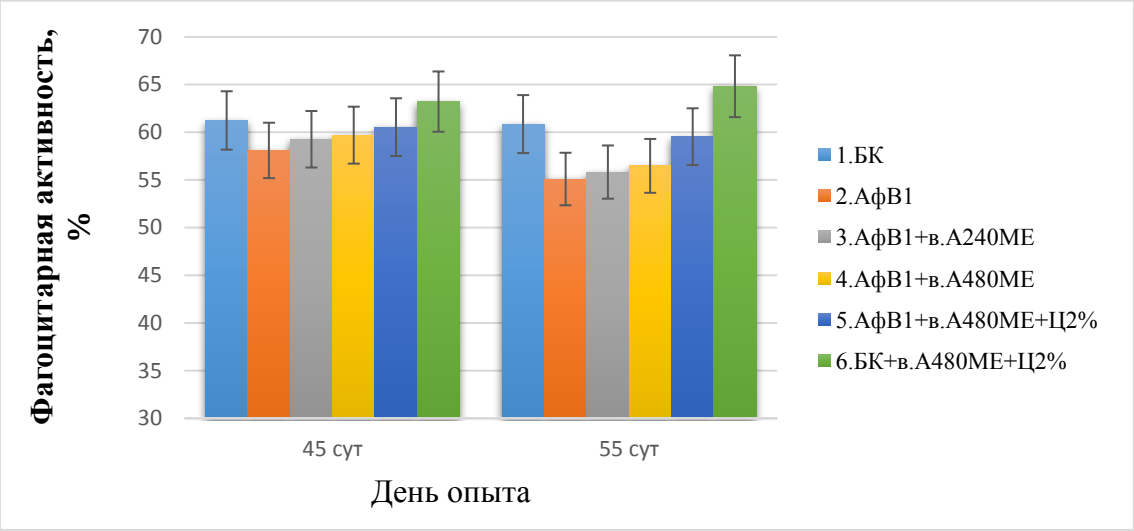

Рисунок 23 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарную активность поросят

Данные, представленные на рисунке 24 указывают на снижение ФИ на 45 и 55 сут на 2,3 и 4,9% (группа АфВ1); на 2,0 и 3,3% (группа АфВ1 + в.А 240 МЕ); на 1,7 и 2,0% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ) и на 0,4 и 0,4% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%) в сравнении с контрольными значениями. В шестой опытной группе данный показатель был выше контрольных цифр на 0,1 и 1,0%.

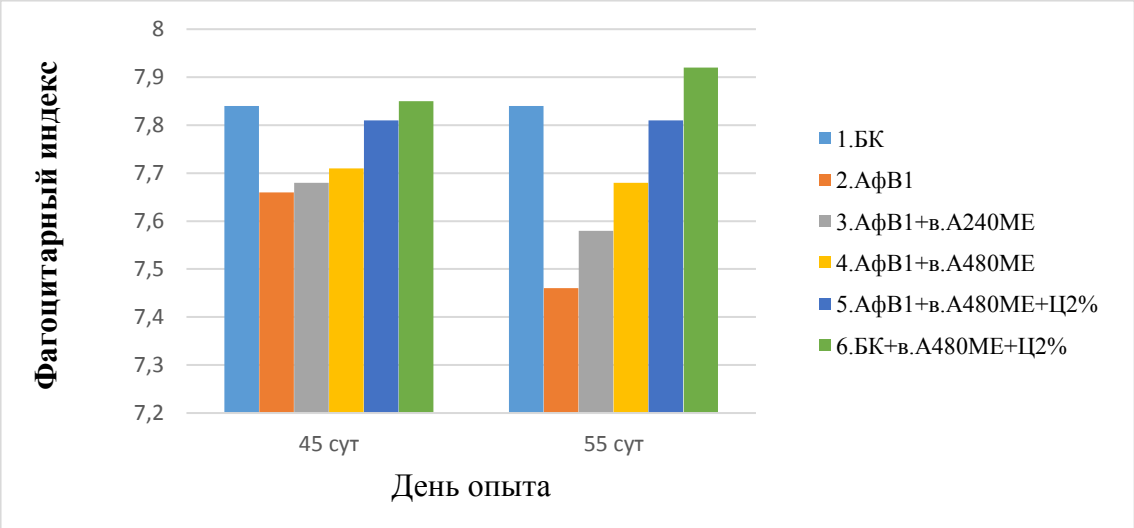

Рисунок 24 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарный индекс поросят

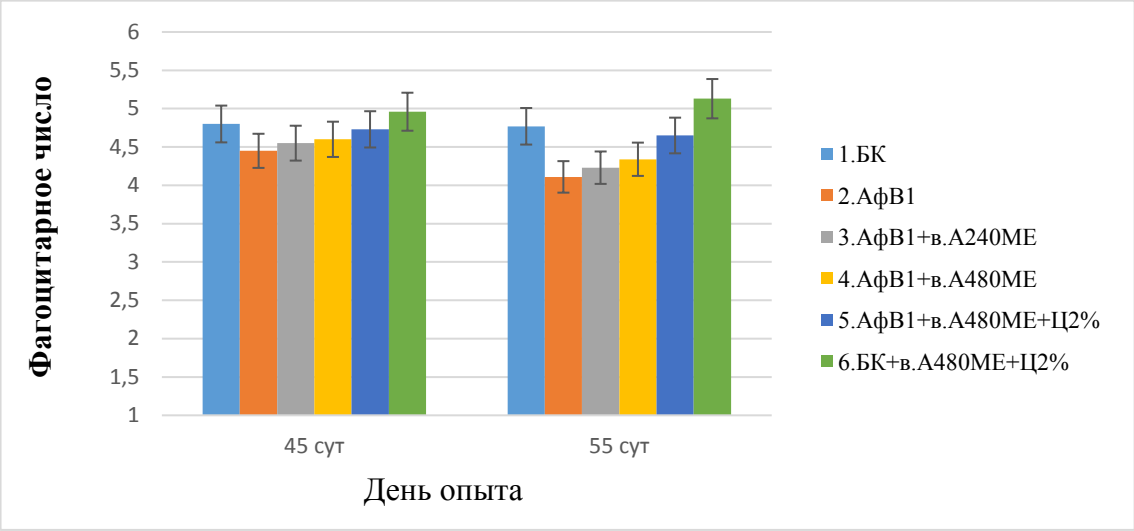

Рисунок 25 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарное число поросят

Аналогичные данные получены для показателя ФЧ (Рис. 25), который уменьшался на 45 и 55 сут относительно контроля на 7,3 и 13,8% (группа АфВ1); на 5,2 и 11,3% (группа АфВ1 + в.А 240 МЕ); на 4,2 и 9,0% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ); на 1,5 и 2,5% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%). У животных шестой группы исследуемый показатель был выше контроля на 3,3 и 7,6%.

Из рисунка 26 следует, что ФЕ снизилась в указанный период на 22,1 ($p<0,05$) и 33,6% ($p<0,01$) (группа АфВ1); на 13,3 и 25,3% (группа АфВ1 + в.А 240 МЕ); на 11,6 и 23,1% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ); на 6,2 и 12,4% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%) в сравнении с группой БК. ФЕ в шестой группе поросят повысилась на 4,0 и 6,9%.

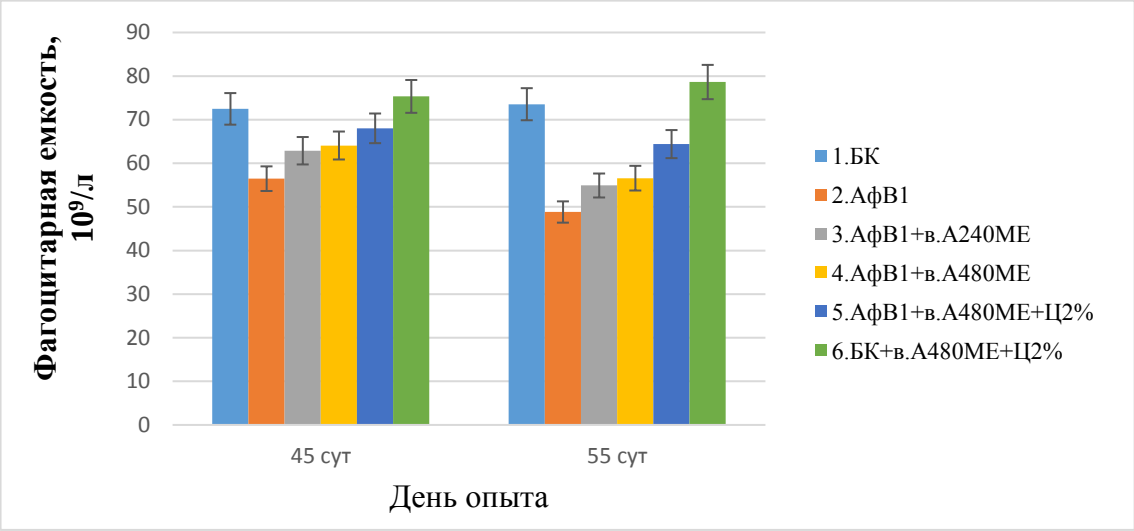

Рисунок 26 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на фагоцитарную емкость поросят

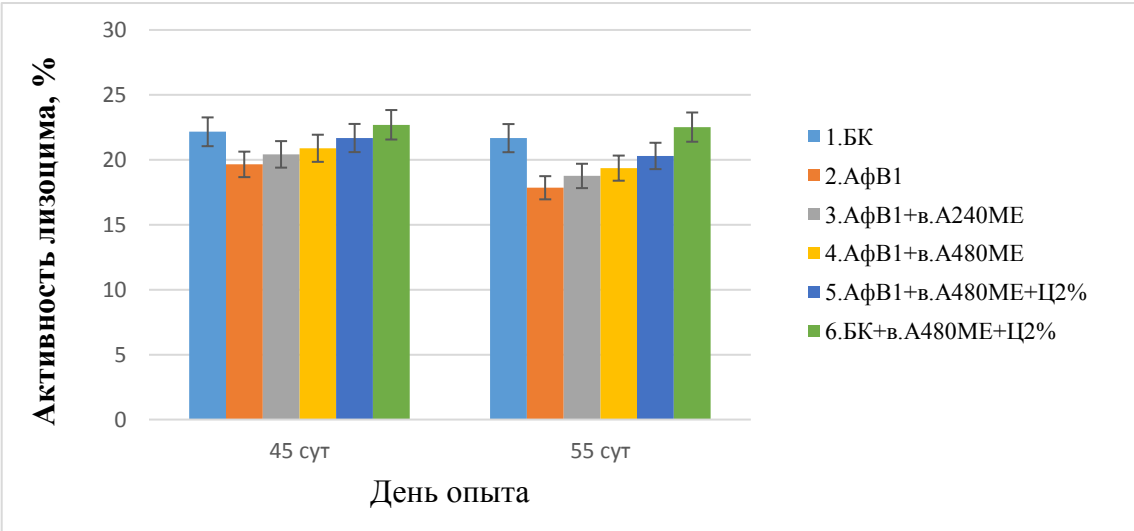

Рисунок 27 – Влияние ретинола ацетата и цеолита на активность лизоцима поросят

Показатель АЛ снизился (Рис. 27) в те же сроки на 11,3 и 17,6% ($p<0,05$) (группа АфВ1); на 7,9 и 13,4% (группа АфВ1 + в.А 240 МЕ); на 5,7 и 10,7% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ); на 2,2 и 6,3% (группа АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%) относительно контрольных величин. Установили повышение данного показателя (группа БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%) на 2,4 и 3,9%.

Полученные в ходе эксперимента результаты свидетельствуют о том, что, потребление поросятами афлатоксина привело к снижению показателей

неспецифической резистентности, при этом дополнительное введение в рацион животных ретинола ацетата способствовало повышению рассматриваемых факторов, а наиболее выраженный защитный эффект отмечен в группе с применением ретинола ацетата и цеолита. Результаты проведенного пыта указывают на то, что ретинола ацетат и цеолит способствуют повышению активности нейтрофилов крови поросят и активизируют защитные свойства организма.

2.2.4.4 Оценка остаточных количеств афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита

В конце эксперимента после убоя животных провели отбор биоматериала для установления содержания остаточных количеств исследуемого токсиканта. Результаты исследования представлены в таблице 15.

Из таблицы видно, что потребление поросятами корма, содержащего афлатоксин В1 привело к накоплению в печени данного токсина. Так, наибольшая концентрация микотоксина была зарегистрирована в группе животных, получавших «токсичный» корм. В третьей и четвертой группах, где животным с рационом дополнительно вводили ретинола ацетат, содержание афлатоксина в печени было ниже на 3,9 и 10,4%, соответственно, относительно группы контроля затравки. В пятой группе, где поросята получали совместно ретинола ацетат и цеолит, содержание микотоксина было ниже на 68,9% ($p<0,001$) в сравнении с группой затравки. В контрольной и шестой группах остаточные количества микотоксинов в печени не обнаружены.

Таблица 15 – Содержание афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани поросят при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=3)

Группа животных	Кол-во афлатоксина В1, мкг/кг	
	Печень	Мышечная ткань
1.БК	Не обнаружено	Не обнаружено
2.АфВ1	5,18±0,16	1,03±0,10
3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	4,98±0,13	1,00±0,11
4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	4,64±0,14	0,97±0,09
5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	1,61±0,08***	Не обнаружено
6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%	Не обнаружено	Не обнаружено

Примечание: **Р < 0,01; ***Р < 0,001

Хроматограммы образцов экстракта печени поросят опытных групп представлены на рисунках 28 и 29.

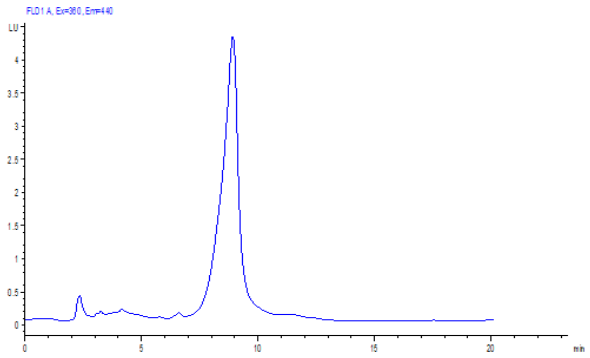

Рисунок 28 - Хроматограмма образца экстракта печени поросят второй группы, афлатоксин В1 (t=9,064 мин)

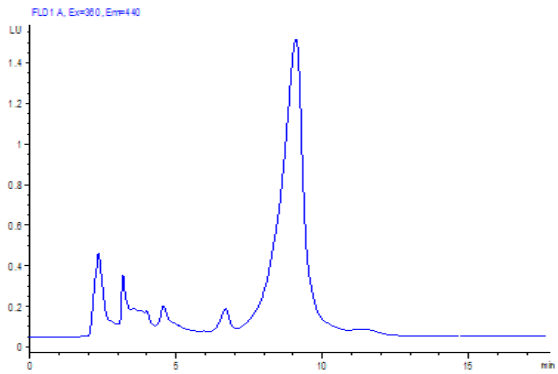

Рисунок 29 - Хроматограмма образца экстракта печени поросят пятой группы, афлатоксин В1 (t=9,065 мин)

Подобные результаты исследований были получены при изучении остаточных количеств афлатоксина в мышечной ткани поросят. Наибольшая концентрация токсина была отмечена во второй группе животных, в третьей и четвертой опытных группах уровень афлатоксина был ниже относительно второй

группы на 2,9 и 5,8% соответственно. В первой, пятой и шестой опытных группах афлатоксин в образцах мышечной ткани не обнаружен.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что совместное применение ретинола ацетата и цеолита значительно уменьшает содержание остаточных количеств исследуемого микотоксина в печени и мышечной ткани подопытных животных и, следовательно, благоприятствует получению качественной продукции от поросят.

2.2.5 Ветеринарно-санитарная оценка качества мяса поросят

2.2.5.1 Органолептическая оценка мяса поросят при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита

При органолептическом исследовании оценивали внешний вид и цвет, консистенцию, запах, состояние жира, прозрачность и аромат бульона каждого образца в отдельности. Установили, что мясо животных первой, четвертой, пятой и шестой опытных групп было хорошо обескровленным. Поверхностные и глубинные слои без постороннего запаха, ощущается специфический аромат, свойственный свежему мясу. Поверхность мяса покрыта шуршащей корочкой подсыхания. Цвет мяса от розового до красного, под серозными покровами в просвечивающих сосудах местами заметны остатки крови. На разрезе консистенция мяса умеренно плотная, упругая, при легком надавливании пальцем быстро выравнивается. На разрезе мышцы влажные, на фильтровальной бумаге не оставляли заметных пятен. Жир бледно-розового цвета, мягкий, эластичный, без постороннего запаха.

Органолептическое исследование мяса поросят второй (АфВ1) и третьей (АфВ1+в.А 240 МЕ) группы показало отклонения от показателей контрольного мяса: степень обескровливания была неудовлетворительная, запах специфический, свойственный этому виду, консистенция мышечной ткани недостаточно упругая, ямка при надавливании пальцем на мясо выравнивается медленно, поверхность

испытуемого образца местами увлажнена и слегка липкая, слабовыраженная корочка подсыхания, цвет мышечных волокон на поперечном разрезе бледный. Это связано с ослаблением мышечного тонуса и нарушения кровообращения.

Следующий этап исследовательской работы включал в себя такой показатель, как пробу варкой, результаты которого описаны далее. Так при испытании образцов от животных второй (АфВ1) и третьей (АфВ1+в.А 240 МЕ) групп обнаружили, что при варке бульон был мутноватый. Островки жира в бульоне располагались мелкими капельками. Результаты исследования мясного бульона, полученного из мяса животных остальных групп (БК; АфВ1+в.А 480 МЕ; АфВ1+в.А 480 МЕ+Ц 2%; БК+в.А 480 МЕ+Ц 2%), напротив, показало его прозрачность, с приятным запахом и множеством жировых капель различной величины, что соответствовало нормам, установленным для свежего доброкачественного мяса.

Таким образом, органолептическое исследование показало, что мясо поросят 1, 4, 5 и 6 групп не имело существенных различий и отвечало требованиям к свежему мясу в соответствии с ГОСТ 7269-2015.

2.2.5.2 Физико-химические и микроскопические показатели мяса поросят

Микроскопические показатели мяса считаются основными в установлении его качества. С целью определения степени безопасности продуктов, получаемых от исследуемых поросят, нами выполнены бактериологические испытания тушек спустя сутки после созревания мяса.

Для выполнения испытаний по оценки наличия микрофлоры в образцах мышечной ткани животных готовили мазки – отпечатки, окрашенные по Граму. При микроскопии мазков-отпечатков с поверхности мышц (первая, четвертая, пятая и шестая группы) обнаружены единичные кокки и палочки; мазков-отпечатков глубоких слоев – микрофлора отсутствовала. В оставшихся группах определили, что поверхность мышц была обсеменена не более 30 кокками и

палочковидными бактериями; в глубоких слоях обнаружены единичные кокки и палочковидные бактерии.

Таким образом, данные полученные при бактериологическом исследовании указывают на то, что мясо поросят, получавших с токсичным и основным рационом ретинола ацетата и цеолит сохраняет свое качество и обладает характерными признаками свежего мяса.

Результаты физико-химического исследования мяса поросят контрольной и опытных групп приведены в таблице 16.

Таблица 16 – Физико-химические показатели мяса поросят при афлатоксикозе и на фоне применения ретинола ацетата и цеолита (n=3)

Показатель	Группа поросят					
	1.БК	2.АфВ1	3.АфВ1 + в.А 240 МЕ	4.АфВ1 + в.А 480 МЕ	5.АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	6.БК + в.А 480 МЕ + Ц 2%
pH	5,7±0,1	6,1±0,1	6,1±0,2	5,8±0,1	5,7±0,1	5,7±0,2
Реакция с сернокис-лой медью	ПРЗ	МУТ	МУТ	ПРЗ	ПРЗ	ПРЗ
Реакция на пероксидазу	+	-	-	+	+	+
Аминоам-миачный азот, мг	0,58±0,02	1,67±0,01	1,51±0,02	0,92±0,02	0,63±0,03	0,55±0,03

Примечание: условные обозначения ПРЗ – прозрачный, МУТ – мутный.

Из таблицы видно, что в группе поросят, получавших токсический корм (АфВ1), pH мяса было выше на 0,40 ед относительно аналогичного показателя группы биологического контроля, в третьей группе животных получены аналогичные результаты, что возможно указывает на низкую активность мышечных ферментов. Одновременно с этим изучаемый показатель в четвертой группе поросят (АфВ1 + в.А 480 МЕ) был на 0,1 ед выше, что подтверждает

отсутствие продуктов первичного распада белка в пробах мяса данной группы. Показатели pH мяса поросят 1 (БК); 5 (АфВ1+в.А 480 МЕ+Ц 2%) и 6 (БК+в.А 480 МЕ+Ц 2%) групп были одинаковыми.

Установить продукты первичного распада белка в бульоне позволяет реакция, проведенная с медным купоросом. Так, фильтрат бульона, полученный из проб мяса поросят второй (АфВ1) и третьей (АфВ1 + в.А 240 МЕ) групп, при добавлении к нему 5% раствора сернокислой меди был мутноватый. Данный факт указывает на присутствие первичных продуктов распада белка в исследуемых фильтратах бульона. Противоположные результаты получены для других групп (БК; АфВ1 + в.А 480 МЕ; АфВ1+в.А 480 МЕ+Ц 2%; БК+в.А 480 МЕ+Ц 2%), бульоны которых были прозрачными, осадка и хлопьев не наблюдали, это свидетельствует об отсутствии в них первичных продуктов распада белка, что соответствует требованиям свежему мясу.

Реакция, поставленная на установление наличия или отсутствия фермента пероксидазы в экстракте, полученного из мяса животных 1 (БК); 4 (АфВ1 + в.А 480 МЕ); 5 (АфВ1+в.А 480 МЕ+Ц 2%) и 6 (БК+в.А 480 МЕ+Ц 2%) групп показала «+» эффект. Быстрая смена окраски в данных пробирках указывает на высокую активность и присутствие изучаемого фермента класса оксидоредуктаз. В группах, соответствующих 2 (АфВ1) и 3 (АфВ1 + в.А 240 МЕ) нумерации результат эксперимента был «-».

Высокий уровень аминоаммиачного азота (Табл. 16) в группе 2 (АфВ1) и 3 (АфВ1 + в.А 240 МЕ) в сравнении с группой 1 (БК) указывает на отклонения от существующих норм для здоровых животных. Аналогичный показатель, изученный для мяса поросят следующих опытных групп (АфВ1+в.А 480 МЕ+Ц 2%; БК+в.А 480 МЕ+Ц 2%) не имел существенных отличий от контрольных аналогов и указывал на свежесть исследуемых образцов.

Таким образом, проведенные исследования с применением органолептических, физико-химических и микроскопических методов позволили сделать заключение, что комплексное воздействие ретинола ацетата и цеолита, как при потреблении поросятами «токсичного» корма, так и без афлатоксина,

способствует получению мяса, показатели которого соответствуют требованиям, действующих НД (нормативных документов), предъявляемых к доброкачественному мясу.

2.2.6 Расчет экономической эффективности

Известно, что отравление афлатоксинами негативно влияет на организм животных и приводит к снижению их продуктивности. Для её повышения применяют кормовые добавки. Однако следует учитывать показатель экономической эффективности использования добавок в рационе животных с целью оценки затрат. Так как применение добавок подразумевает дополнительные финансовые расходы. Экономическую эффективность применения ретинола ацетата и цеолита определяли по методике И.Н. Никитина (2012).

Полученная в ходе профилактики афлатоксикоза поросят экономическая эффективность на 1 рубль дополнительных затрат составила 3 рубля 42 копейки. Экономическая эффективность применения ретинола ацетата и цеолита в рационе поросят без афлатоксина составила 2 рубля 79 копеек (Табл. 17).

Таблица 17 – Расчет экономической эффективности применения ретинола ацетата и цеолита на фоне афлатоксикоза и без на производственных поросятах

Показатель	Группа	
	АфВ1 + в.А 480 МЕ + Ц 2%	в.А 480 МЕ + Ц 2%
1	2	3
Колочиство поросят, гол	10	10
Дополнительно получено прироста живой массы, кг	15,21	17,80
Затраты на цеолит,руб	334,295	348,17
Затраты на ретинола ацетат, руб	73,2	73,2

Продолжение таблицы 17

1	2	3
Оплата труда, руб	558	558
Цена реализации единицы продукции, руб	140	140
Стоимость дополнительной продукции, руб	3304	2730
Экономическая эффективность на 1 рубль затрат, руб	3,42	2,79

Таким образом, данные представленные в таблице 17 указывают на эффективность применения ретинола ацетата и цеолита как на фоне афлатоксикоза, так и на фоне ОР без содержания афлатоксина.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что объекты растительного происхождения подвергаются поражению микроскопическими грибами, в основном, в процессе их вегетации или хранения. В работах Тремасова М.Я. и др. (2011) отмечено, что, каждый год при хранении до 30% от всей производимой зерновой культуры в отдельных сельхозпредприятиях становится непригодным к применению вследствие поражения грибами. Нередко в качестве корма для скота используют такое испорченное зерно, однако, следует учесть, что это может привести к гибели животного. При этом необходимо учитывать, что даже малые концентрации этих поллютантов обладают канцерогенным эффектом [45].

В связи с тем, что токсигены стремительно адаптируются к новым технологиям, повышая при этом в сотни раз свой токсинообразующий потенциал, решение задач, связанных с микотоксинами продолжает усугубляться.

По мнению Тремасова М.Я. (2002), Akinola S.A. et al. (2021) афлатоксикоз считается опасным и часто встречаемым заболеванием среди продуктивных животных и птиц.

Вышеизложенное указывает на актуальность вопроса профилактики афлатоксикоза. Вследствие этого на первый план необходимо ставить мероприятия, связанные с профилактикой токсикозов, разрабатывать новые, усовершенствовать имеющиеся препараты с защитными свойствами.

Экспериментальные данные, полученные Былгаевой А.А. (2018); Лаврентьевым А.Ю. и соавт. (2018); Ленковой Т.Н. и соавт. (2019); Ulaiwi A.H. (2018), которые исследовали рационы, имевшие в своем составе цеолитсодержащие препараты, витаминно-минеральные добавки и различные микроэлементы, подтвердили, что введение в рационы различных кормовых добавок повышает обменные процессы организма и уровень естественной резистентности животных, что благоприятствует уменьшению заболеваемости, нарастанию сохранности молодняка и снижению падежа, а также улучшает

качество животноводческой продукции. Положительное влияние на обменные процессы оказывают и антиоксиданты, которые оказывают стабилизирующее действие на мембраны, содержащие ферменты, участвующие в процессах детоксикации ксенобиотиков [130].

Проявление биологической активности афлатоксинов (токсической, канцерогенной, мутагенной и других) может изменяться под влиянием разнообразных факторов, о чем свидетельствует существенный фактический материал, который имеется на сегодняшний день [209, 257]. К числу таких факторов следует отнести витамины, отмечает Сенцова Д.О. и соавт. (2018). При этом наибольший научный интерес представляет витамин А, являющийся природным антиоксидантом, осуществляющим защиту клеточных мембран от ПОЛ [156, 274]. Все это и определило цель настоящих исследований.

Нами проведен мониторинг остаточных количеств пестицидов и микотоксинов в природных объектах (почва, вода), зерновых культурах и кормах для сельскохозяйственных животных как показатель их безопасности. По результатам исследований установили, что часто встречающимся микотоксином в зерновых культурах оказался афлатоксин. В кормах были выявлены: афлатоксин В1, зеараленон, Т-2 токсин, фумонизин В1 и дезоксиниваленол. Наибольший процент загрязненных образцов установили на корма для продуктивной птицы и свиней. Выявлены образцы, где уровень микоткосинов превышал установленные МДУ. Следует отметить, что обсуждаемые загрязнители даже в ничтожно малых количествах могут нанести серьезный ущерб здоровью животных снижая их продуктивность, увеличивая их предрасположенность к заболеваниям различной этиологии и соответственно ухудшая качество животноводческой продукции.

Для определения остаточных количеств афлатоксина В1 в биологическом материале нами проведен подбор условий и предложен способ пробоподготовки образцов с последующим ВЭЖХ анализом с флуориметрическим детектированием.

Выбор модели животных для проведения эксперимента основывался на показателях чувствительности к действию токсинов различных животных, в связи

с чем для исследований были выбраны кролики и свинья [2, 156]. Следует учесть, что свиньи являются чувствительными и к недостатку витамина А [72].

Изучения результативности применения средств профилактики афлатоксикоза на лабораторных и сельскохозяйственных животных показали, что у подопытных животных, группы контроля затравки, наблюдали клинические признаки отравления в виде снижения массы тела, аппетита, угнетенного состояния, они были более склонны расстройствам ЖКТ. Установили, что применение ретинола ацетата и цеолита способствовало нормализации клинических признаков афлатоксикоза.

Учитывая, что афлатоксин В1 во всех концентрациях подавляет рост животных – был определен живой вес на начальном этапе и при завершении опыта. Отметили, что масса тела животных, содержащихся на «токсичном» рационе имела самые низкие показатели. Применение с «токсичным» рационом ретинола ацетата и цеолита способствовало увеличению привесов. Наибольший прирост живой массы был отмечен у кроликов, содержащихся на ОР с добавлением ретинола ацетата и цеолита. Аналогичные результаты были получены при научно-хозяйственных испытаниях на поросятах. Полученные результаты согласуются со многими исследованиями [218].

Для более тщательной характеристики токсического процесса, вызванного афлатоксином В1 и защитным действием испытуемых нами средств, являются изменения гематологических и биохимических показателей. Наши исследования по изучению показателей крови кроликов и поросят свидетельствуют о негативном действии афлатоксина В1 на данные параметры. Результаты наших исследований согласуются с литературными данными [173, 183, 194]. Введение в рацион ретинола ацетата оказало благоприятное влияние на изучаемые показатели.

Огромной значимостью обладают исследования направленные на изучение содержания форменных элементов крови. Морфо-биохимические показатели крови прямопорционально отражают перемены, происходящие в организме под действием факторов внешней среды. Чем больше нарушений происходит в обмене веществ, тем сильнее выявляются изменения в крови.

Воздействие на организм животных афлатоксина в ходе эксперимента выражалось в снижении количества форменных элементов крови. Отметили положительное влияние ретинола ацетата и цеолита при афлатоксикозе на обсуждаемые показатели. Установили, что добавление в ОР ретинола ацетата и цеолита вызвало незначительный рост обсуждаемых показателей в пределах физиологической нормы. Полученные результаты позволяют утверждать, что ретинола ацетат и цеолит активизируют функции кроветворных органов.

Изучения биохимических анализов крови показали существенные изменения по содержанию общего белка, белковых фракций и глюкозы. О нарушениях белкового обмена в организме животного, а также изменениях, происходящих в печени, в результате действия исследуемого фактора кормления судят по изменению количества общего белка. На протяжении исследования в группах 2, 3, 4 и 5, за исключением 1 и 6 групп, отмечали спад уровня общего белка и альбуминов в сыворотке крови животных. Добавление ретинола ацетата и цеолита в рацион животных при экспериментальном афлатоксикозе способствовало нормализации данных показателей. При этом, у кроликов шестой группы, содержащихся на ОР с дополнительным введением витамина и цеолита количество общего белка увеличилось на 5,6% относительно фона и на 3,8% относительно биологичекого контроля. Концентрация γ-глобулинов также имела тенденцию к повышению и на 55 сут была выше фоновых значений на 3,4% и контрольных аналогов – на 2,2%. Следует отметить, что повышение содержания общего белка в сыворотке крови кроликов данной группы происходило за счет глобулиновой фракции, в частности γ-глобулинов. Полученные данные об изменениях биохимических показателей крови при афлатоксикозе коррелируют со многими исследованиями [220].

По мнению Чиркина А.А. (2007) нарушения белковообразовательной и адсорбционной функции печени приводят к уменьшению уровня альбуминов в сыворотке крови, поскольку эти белки вырабатываются в печени. По утверждению Kazuo N., Hiroko N. (2000) стабильность объема крови напрямую зависит от количества альбуминов, удерживающих воду, соответственно при их уменьшении

вязкость плазмы будет повышаться что увеличивает нагрузку на сердце и в результате нарушается работа сердечно-сосудистой системы.

Изменения γ-глобулиновой фракции характеризует нарушения, происходящие в органах иммунной системы и являются как бы индикаторами выработки антител при отравлениях, вызванных интоксикацией микотоксинами.

Подобные изменения по содержанию общего белка и белковых фракций при смоделированном афлатоксикозе в условиях применения ретинола ацетата и цеолита подтверждаются в дальнейших наших исследованиях на поросятах.

Глюкоза – моносахарид, который обеспечивает организм энергией. Его концентрация резко понижается при действии АфВ1, что подтверждается и нашими исследованиями как в лабораторных условиях, так и в условиях хозяйства. Установили, что добавление к ОР ретинола ацетата и цеолита способствовало нормализации данного показателя.

О полноценности белкового обмена судят по активности печеночных ферментов АСТ и АЛТ, которая отражает функциональное состояние печени и сердечной мускулатуры. О благоприятном воздействии ретинола ацетата на обмен веществ говорят менее выраженные изменения активности изучаемых ферментов печени, в группах с применением данного препарата. Как показали результаты активность ферментов АСТ и АЛТ была повышена у кроликов на токсичном рационе без средств профилактики. Полученные данные о высоких концентрациях АСТ и АЛТ в крови животных при афлатоксикозе согласуются со многими исследованиями [214, 227, 270]. О повышении концентрации сывороточных АСТ и АЛТ при воздействии микотоксина сообщает и Adegbeye M.J. et al. (2020). Отметили, что применение ретинола ацетата и цеолита способствовало восстановлению активности изучаемых ферментов как в опытах на кроликах, так и в опытах на поросятах.

По результатам проведенных исследований видно, что потребление афлатоксина приводит к уменьшению содержания витамина А в сыворотке крови. В тоже время в группах с применением ретинола ацетата и цеолита рассматриваемый показатель находился в пределах физиологической нормы.

Установили, что применение ретинола ацетата и цеолита при микотоксикозе, вызванном афлатоксином позитивно отражается на показателях белкового обмена, динамику содержания глюкозы и уровень витамина А, также способствует нормализации ферментативного профиля крови животных.

Для обеспечения животных крепким здоровьем необходимо, чтобы иммунная система функционировала в нормальном режиме. Процесс поглащения клеток друг другом (фагоцитоз) – важный механизм для формирования клеточного иммунитета. В результате смоделированного афлатоксикоза у всех животных обнаружили снижение фагоцитарной способности нейтрофилов и лизоцимной активности. Использование ретинола ацетата и цеолита способствовало повышению данных показателей. У кроликов и поросят, содержащихся на ОР с применением ретинола ацетата и цеолита, отметили тенденцию к повышению обсуждаемых показателей, которая находилась в физиологических пределах. Данные результаты дают основание утверждать, что ретинола ацетата и цеолита повышают устойчивость организма и стимулируют факторы неспецифической резистентности.

Установлено, что введение в рацион, содержащий афлатоксин, ретинола ацетата и цеолита предотвращает накопление данного токсина в печени и мышечной ткани животных.

При наружном осмотре внутренних органов установили, что при затравке животных токсичным кормом обнаруживаются патологические изменения, характерные для афлатоксикоза: желтушность видимых слизистых оболочек ротовой полости, глаз; кровоизлияния и точечные геморрагии внутренних органов; следы жировой и белковой дистрофии печени животных. Патологоанатомическая картина животных, получавших токсичный рацион, с дополнительным введением ретинола ацетата и цеолита характеризовалась отсутствием патологических изменений.

Данные полученные в результате ветеринарно-санитарной экспертизы мяса поросят второй группы свидетельствуют об ухудшении физико-химических показателей, что коррелирует с данными других авторов [12, 29]. В ходе

органилептического и физико-химического анализа образцов мяса, отобранного от группы с применением профилактирующих афлатоксикоз средств, установили, что эти образцы обладали незначительным отличием от контрольной группы. При исследовании мяса поросят, содержащихся на ОР с применением ретинола ацетата и цеолита отметили, что органилептические и физико-химические показатели были идентичны с аналогичными показателями контрольной группы.

Негативное действие афлатоксина, проявляющееся в ухудшении здоровья животного, снижении продуктивности, нарушении определенных функций организма, изменениях в морфо-биохимических показателях крови подтверждено исследованиями на кроликах и свиньях. Антитоксический эффект применяемых нами цеолита и витамина А обусловлен, с одной стороны сорбирующей способностью цеолита, который связывает токсические молекулы в желудочно-кишечном тракте, ингибируя его дальнейшее поступление и уменьшая токсический эффект. С другой стороны, витамин А оказывает стимулирующее воздействие на иммунитет, защиту от окислительных повреждений, что обусловлено способностью связывать свободные радикалы.

Таким образом, в лабораторных и производственных условиях экспериментально обоснована и показана эффективность применения ретинола ацетата и цеолита при афлатоксикозах животных, установлено, что применяемые к ОР добавки способствуют повышению продуктивности и соответственно качетству получаемой продукции.

В результате проведенных исследований сформулированы следующие выводы:

1. Мониторинговыми исследованиями установлено, что зерновые культуры и корма для сельскохозяйственных животных содержат экотоксиканты, как природного, так и техногенного происхождения. Загрязненность зерновых культур афлаткосином составила 47,4%; кормов – 34,9% от положительных по наличию микотоксинов проб.

2. Разработана оптимальная схема пробоподготовки биологического материала для последующего определения остаточных количеств афлатоксина В1

методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием. Схема пробоподготовки включала следующие стадии: измельчение, экстрагирование дихлорметаном, концентрирование, перерастворение в гексане, очистку экстракта с применением ТФЭ, концентрирование очищенного экстракта и хроматографический анализ афлатоксина после предварительной дериватизации.

3. Включение в рацион животных ретинола ацетата (375 МЕ/кг живой массы кроликов и 480 МЕ/кг живой массы поросят) и цеолита (2% от рациона) способствует нормализации морфо-биохимических параметров крови, показателей неспецифической резистентности и снижает накопление токсина в органах у кроликов и поросят на 65,6 и 68,9% ($p<0,001$); добавление испытуемых средств к основному рациону без афлатоксина оказывает положительное действие на ростовесовые показатели, улучшает интенсивность обменных процессов (у кроликов прирост живой массы увеличился на 11,6%; у поросят – на 12,3% относительно контрольных аналогов, общий белок у кроликов увеличился на 5,63%; у поросят – на 5,9% по сравнению с исходными значениями).

4. Установлено, что ретинола ацетата и цеолит не оказывают отрицательного воздействия на качество получаемой продукции, способствуют сохранению показателей пищевой ценности мяса. Мясо поросят, рационы которых были контаминированы афлатоксином В1 на фоне применения ретинола ацетата и цеолита, имеет органолептические и физико-химические показатели, соответствующие стандартам, предусмотренным для свежего мяса.

5. Экономическая эффективность на 1 рубль затрат от применения ретинола ацетата и цеолита на фоне афлатоксикоза составила 3 рубля 42 копеек; на фоне основного рациона без содержания токсина – 2 рубля 79 копеек.

3.1 Практические предложения

Для определения остаточных количеств афлатоксина В1 в органах и тканях животного рекомендуется использовать разработанную схему пробоподготовки с последующей идентификацией методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием.

Результаты исследования включены в «Методические рекомендации по определению афлатоксинов в биологическом материале методом высокоэффективной жидкостной хроматографии».

На основании проведенных научно-хозяйственных опытов и полученных экспериментальных данных рекомендуется применять препарат ретинола ацетата при афлатоксикозе, а также для повышения продуктивных качеств, активизации защитных механизмов и неспецифической резистентности организма, в дозах: для кроликов – 375 МЕ на 1 кг живой массы, для поросят – 480 МЕ на 1 кг живой массы совместно с цеолитом в дозе 2% к рациону.

3.2 Перспективы дальнейшей разработки

Перспективным направлением дальнейшей разработки темы является изучение применения ретинола ацетата и цеолита при загрязнении кормов афлатоксинами и другими микотоксинами, продолжение изучения эффективности их использования в рационах других видов животных и установление оптимальных дозировок.

Получение комплексной добавки в корма для сельскохозяйственных животных и её внедрение в животноводческие предприятия с целью коррекции последствий отравления афлатоксином В1, а также сохранения продуктивности и качества мясной продукции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛ – активность лизоцима;

АЛТ – аланинаминотрансфераза;

АСТ – аспартатаминотрансфераза;

АфВ1 – афлатоксин В1;

БАВ – биологически активные вещества;

ВАК – высшая аттестационная комиссия;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

ЖВ – жирорастворимый витамин;

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;

$ЛД_{50}$ – среднесмертельная доза;

МЕ – международная единица;

НИР – научно-исследовательская работа;

ОР – основной рацион;

ОхА – охратоксин А;

ПДК – предельно-допустимая концентрация;

ПОЛ – перекисное окисление липидов;

РНК – рибонуклеиновая кислота;

УФ – ультрафиолет;

ФА – фагоцитарная активность;

ФЧ – фагоцитарное число;

ФИ – фагоцитарный индекс;

ФЕ – фагоцитарная емкость;

ЦНС – центральная нервная система;

DAD – диодно-матричный детектор.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулхаликов, Р. З. Влияние антиоксиданта и ингибитора плесени на продуктивность и гематологические показатели бройлеров при снижении риска афлатоксикоза / Р. З. Абдулхаликов, С. Ч. Савхалова, Л. А. Витюк // Животноводство Юга России. – 2018. – № 2 (28). – С. 32-35.

2. Аверкиева, О. Влияние микотоксинов на здоровье свиней / О. Аверкиева // Животноводство России. Корма. – 2015. – № 10. – С. 58-59.

3. Адсорбент микотоксинов на основе смектита для кур-несушек / Ч. Обрадо Барилл, А. Лозова Сергиева, В. Манукян, Е. Байковская, Н. Гогина // Комбикорма. – 2019. – № 4. – С. 88-91.

4. Актуальные проблемы ветеринарной токсикологии / М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди, Э. И. Семенов, Е. Ю. Тарасова // Вестник ветеринарии. – 2012. – Т. 63, №4. – С. 16-18.

5. Алеева, Я. С. Жирорастворимые витамины A, D, E и их влияние на организм рогатого скота / Я. С. Алеева, Н. П. Полякова // Химия и жизнь : сборник XX Международной научно-практической студенческой конференции. – Новосибирск, 2021. – С. 99-103.

6. Алексеев, А. Л. Антивитамины: механизм их действия, содержание в продуктах питания / А. Л. Алексеев, Е. С. Кобцева // Молодежная наука : сборник статей IV Международной научно-практической конференции. – Пенза, 2021. – С. 72-75.

7. Алексеев, А. Л. Эффективность использования поливитаминных препаратов при гиповитаминозах у поросят / А. Л. Алексеев, Т. В. Алексеева // Научная жизнь. – 2021. – Т. 16, № 2 (114). – С. 236-242.

8. Алтынбеков, О. М. Лечение авитаминоза у телят / О. М. Алтынбеков, К. А. Терентьева // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства : материалы национальной научно-практической конференции с международным участием посвященной памяти доктора биологических наук,

профессора Е. П. Ващекина, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почетного работника высшего профессионального бразования РФ, Почетного гражданина Брянской области. – Брянск, 2021. – С. 14-17.

9. Анализ результатов мониторинга загрязнения продовольственного зерна урожая 2017 г. и продуктов его переработки микотоксинами ФИЦ питания и биотехнологии / И. Б. Седова, З. А. Чалый, Л. П. Захарова, М. Г. Киселева // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С. 661-665.

10. Аналитика данных распространения Т-2 токсина в Республике Татарстан / И. Н. Штыров, Э. И. Семёнов, Л. Е. Матросова, С. А. Танасева, Е. Ю. Тарасова, Н. Н. Мишина // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 1. – С. 167.

11. Антипов, В. А. Микотоксикозы – важная проблема животноводства / В. А. Антипов, В. Ф. Васильев, Т. Г. Кутищева // Ветеринария. – 2007. – № 11. – С. 7-9.

12. Атнагулова, Э. М. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса свиней при афлатоксикозе на фоне применения гепатопротекторов и сорбентов / Э. М. Атнагулова // Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК : материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной 90-летию образования Казанской зоотехнической школы (факультет ветеринарной медицины). – Казань, 2020. – С. 223-225.

13. Афлотоксины зерна и способы минимизации рисков их накопления / Н. В. Науменко, И. Ю. Потороко, А. В. Малинин, А. В. Цатуров, О. Д. Назарова // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2019. – Т. 7, № 2. – С. 70-80.

14. Бабайлов, В. А. Авитаминоз А / В. А. Бабайлов, Л. И. Дроздова, А. П. Никитин // Болезни тпиц : сборник статей. – 2020. – С. 12-14.

15. Безгубина, Е. Е. Потребность свиней в витамине А / Е. Е. Безгубина // В мире научных открытий : материалы IV Международной студенческой научной конференции. – Ульяновск, 2020. – С. 205-207.

16. Берестов, В. А. Звероводство : учебное пособие / В. А. Берестов. – СПб. : Лань, 2002. – С. 303-320.

17. Бессарабов, Б. Ф. Гиповитаминозы птиц / Б. Ф. Бессарабов, И. И. Мельникова // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 9. – С. 39-47.

18. Бикташев, Р. У. Динамика синтеза металлотионеина на фоне шунгита и цеолита в рационах цыплят-бройлеров, контаминированных кадмием и свинцом / Р. У. Бикташев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медецины им. Н. Э. Баумана. – 2019. – Т. 238, № 2. – С. 35-38.

19. Биологические функции каротиноидов при воспроизводстве крупного рогатого скота / Е. В. Кузьминова, М. П. Семененко, А. Г. Кощаев, А. Н. Трошин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – № 129 (05). – С. 1124-1136.

20. Бойко, А. В. Активные витамины / А. В. Бойко // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2005. – № 8. – С. 54-55.

21. Бокарева, Е. А. Профилактика и лечение гиповитаминоза А у кур в условиях птицефабрики / Е. А. Бокарева, Л. Ф. Бодрова // Теория и практика модернизации научной деятельности : сборник статей Международной научно-практической конференции. – Оренбург, 2019. – С. 151-155.

22. Бородулина, В. И. Динамика биохимических показателей крови свиней и птицы при применении адсорбента микотоксинов «Фунгинорм» / В. И. Бородулина // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2020. – № 1ю. – С. 20-25.

23. Брылин, А. П. Влияние микотоксинов на эпизоотическое благополучие, иммунитет и производство экологически безопасной продукции птицеводства / А. П. Брылин // Птицеводство. – 2019. – № 5. – С. 57-64.

24. Брылин, А. П. Микотоксикозы свиней / А. П. Брылин // Свиноводство. – 2015. – № 6. – С. 45-46.

25. Былгаева, А. А. Природные сорбенты для профилактики микотоксикозов / А. А. Былгаева // Естественные и технические науки. – 2018. – № 4 (118). – С. 52-56.

26. Валошин, А. В. Нормирование А-витаминного питания крупного рогатого скота : монография / А. В. Валошин, А. Ф. Крисанов, В. В. Мунгин. – Саранск : Изд-во Мордовского ун-та, 2017. – 96 с.

27. Вертипрахов, В. Г. Особенности секреторной функции поджелудочной железы цыплят бройлеров и возможности коррекции пищеварения животных ферментными препаратами на цеолитовой основе : специальность 03.00.13 «Физиология» : автореф. дис. … д-ра биол. наук / Вертипрахов Владимир Георгиевич ; Новосиб. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2004. – 42 с.

28. Ветеринарно-санитарная оценка тушек цыплятбройлеров при контаминации рационов тяжелыми металлами и применении энтеросорбентов / И. Р. Кадиков, К. Х. Папуниди, Е. Н. Майорова, В. А. Конюхова, Д. Х. Гатауллин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2019. – № 5. – С. 52-58.

29. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса птиц при микотоксикозах / О. К. Ермолаева, С. А. Танасева, С. Л. Мохтарова, Э. И. Семенов, Э. К. Папуниди // Ветеринарный врач. – 2019. – № 4. – С. 21-26.

30. Власова, Е. Ю. Профилактика гиповитаминозов у индюшат при применении комплексного препарата «Алфавит АД$_3$Е» / Е. Ю. Власова, Б. Л. Белкин, В. И. Крюков // Вестник аграрной науки. – 2019. – № 6 (81). – С. 36-46.

31. Влияние витамина А на обмен кальция и фосфора у бычков при скармливании солодовых ростков / Д. П. Паршуткин, А. Ф. Крисанов, Н. Н. Горбачева, А. В. Валошин // Аграрный Научный журнал. – 2016. – № 6. – С. 34-36.

32. Влияние комплекса цеолита и шунгита на резистентность и продуктивность цыплят-бройлеров при смешанном микотоксикозе / Н. Н. Мишина, Э. И. Семенов, К. Х. Папуниди, Р. М. Потехина, С. А. Танасева,

О. К. Ермолаева, З. Х. Сагдеева, Д. Х. Гатауллин // Ветеринарный врач. – 2018. – № 6. – С. 3-9.

33. Влияние комплексной минерально-витаминной кормовой добавки «Надежда» на прирост телят / М. Т. Сабитов, М. Г. Маликова, А. Р. Фархутдинова, Н. Г. Фенченко, Н. И. Хайруллина // Молочное и мясное скотоводство. – 2019. – № 4. – С. 31-34.

34. Влияние сорбента на основе монтмориллонитов на продуктивные и физиологические показатели цыплят-бройлеров / М. В. Новикова, И. А. Лебедева, А. И. Белоусов, С. В. Малков, А. С. Красноперов // Птицеводство. – 2020. – № 10. – С. 41-45.

35. Влияние цеолитов на ультраструктуру печени и почек свиней / А. В. Иванов, А. О. Муллакаев, М. Н. Лежнина, А. А. Шуканов // Ветеринария. – 2015. – № 6. – С. 41-44.

36. Гаркушин, Е. В. Влияние витаминов и минералов на состояние здоровья и продуктивность крупного рогатого скота / Е. В. Гаркушин, Т. П. Шубина // Вестник Донского государственного аграрного университета. – 2021. – № 1 – 1 (39). – С. 38-41.

37. Гнездилова, Л. А. Микотоксикозы животных / Л. А. Гнездилова, Н. М. Курилова // Успехи медицинской микологии. – 2018. – Т. 19. – С. 355-359.

38. ГОСТ 23392-2016. Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести. – М.: Стандартинформ, 2019. – 16 с.

39. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. – М.: Стандартинформ, 2019. – 14 с.

40. ГОСТ 7269-2015. Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести. – М.: Стандартинформ, 2016. – 13 с.

41. Гранулированный жом и витамин А в различной дозировке в кормлении бычков / А. В. Валошин, А. Ф. Крисанов, Г. А. Симонов, О. Б. Филиппова // Техника и технологии в животноводстве. – 2020. – № 2 (38). – С. 9-3.

42. Грибы рода Aspergillus - возбудители болезней животных и птиц / Р. М. Потехина, Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова, Э. И. Семенов, С. А. Танасева, Н. Н.

Мишина, О. К. Ермолаева, А. Р. Валиев, А. И. Самсонов. – Казань : Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2020. – 121 с.

43. Громов, И. Н. Роль патоморфологических исследований в диагностике гипо- и гипервитаминозов птиц / И. Н. Громов // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сборник научных трудов. – Гродно, 2020. – С. 73-81.

44. Диаз, Д. Микотоксины и микотоксикозы. – М. : Печатный город, 2006. – 382 с.

45. Донник, И. М. Руководство по средствам и способам защиты сельскохозяйственных животных от микотоксикозов с учетом региональных особенностей (средний Урал) / И. М. Донник, И. А. Шкуратова, И. А. Лебедева. – Екатеринбург : Уральское издательство, 2012. – 48 с.

46. Дорофейчук, В. Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В. Г Дорофейчук // Лаб. Дело. – 1968. – №1. – С. 28.

47. Ефимова, И. О. Профилактическая витаминизация поросят / И. О. Ефимова, А. В. Адьдяков // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2020. – Т. 241, № 1. – С. 80-84.

48. Жестков, Н. Н. Оценка качества кормов по показателям токсикологической безопасности / Н. Н. Жестков, М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2015. – № 2(14). – С. 16-19.

49. Жуленко, В. Н. Ветеринарная токсикология / В. Н. Жуленко, М. И. Рабинович, Г. А. Таланов. – М. : Колос, 2002. – 384 с.

50. Зюзева, Т. Н. Актуальность применения витаминов в животноводстве / Т. Н. Зюзева // Знания молодых – будущее России : материалы XVII Международной студенческой научной конференции. Сборник научных трудов, Киров, 10-12 апреля 2019 года. – Киров : Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 2019. – С. 275-276.

51. Иванова, М. Е. Валидация методики количественного определения ретинола и ретинола пальмитата в сыворотке крови животных методом ВЭЖХ с помощью градиентного элюирования / М. Е. Иванова // Ретиноиды : альманах. – Балашиха, 2021. – С. 40-46.

52. Использование природных цеолитов Дагестана в медицине и ветеринарии / А. А. Алиев, Б. И. Шапиев, К. Б. Шапиева, З. З. Сурхаева // Проблемы экологической медецины : матер. VII науч.-практич. конференции памяти профессора С. А. Абусуева. – Махачкала, 2017. – С. 239-242.

53. Исследование ДНК-повреждающего действия микотоксинов на фоне использования средств профилактики / Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова, Н. И. Хаммадов, Т. Х. Фаизов, К. А. Осянин // Ветеринарный врач. – 2021. – № 3. – С. 65-71.

54. Кабисова, Э. Н. Влияние афлатоксинов на развитие рака печени / Э. Н. Кабисова, Д. Т. Хадаева // Молодой ученый. – 2021. – № 49 (391). – С. 315-316.

55. Каиров, В. Р. Продуктивность и качественные показатели мяса цыплят-бройлеров при скармливании в составе рациона антиоксидантов / В. Р. Каиров, М. С. Газзаева, М. А. Гатциев // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2020. – Т. 57, № 1. – С. 68-73.

56. Камбатыров, М. Б. Роль кормовых добавок в рационе питания сельскохозяйственных животных / М. Б. Камбатыров, У. Б. Назарбек, А. С. Тенлибаев // Вестник науки Южного Казахстана. – 2018. – № 3 (3). – С. 132-137.

57. Капитонова, Е. А. Оценка ветеринарно-санитарного качества мяса цыплят-бройлеров при экспериментальном микотоксикозе и введения добавки-сорбента / Е. А. Капитонова // Лучший молодой ученый. – 2020 : I международная книжная коллекция научных работ молодых ученых, Нур-Султан, 13 - 17 марта 2020 г. – Нур-Султан : ОЮЛ в форме ассоциации «Общенациональное движение «Бобек», 2020. – С. 48-51.

58. Карапенян, А. Ф. Гистоморфологические изменения почек крыс при поступлении с кормом афлатоксина В1 / А. Ф. Карапенян, А. В. Григорян, М. А. Мхитарян // Успехи медицинской микологии. – 2018. – Т. 19. – С. 309-313.

59. Качество мяса свиней при микотоксикозе на фоне применения энетосорбентов / О. К. Ермолаева, С. А. Танасева, Л. Е. Матросова, Е. Ю. Тарасова, Э. И. Семенов // Ветеринарный врач. – 2020. – № 4. – С. 15-20.

60. Кензина, В. И. Гипо – и авитаминоз С птиц: патогенез и патоморфологические изменения / В. И. Кензина, Л. И. Дроздова, А. П. Никитин // Болезни птиц : сборник статей. – 2020. – С. 56-59.

61. Кондрахин, И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник / Под. ред. проф. И. П. Кондрахина. – М. : КолосС, 2004. – С. 186-204.

62. Кононенко, Г. П. Фузариотоксины в зерне колосовых культур: региональные особенности / Г. П. Кононенко, А. А. Буркин // Успехи медицинской микологии. – М. : Национальная академия микологии, 2003. – Т. 1. – С. 141-144.

63. Коромовые отравления и токсикоинфекции животных: монография / К. Х. Папуниди, А. И. Никитин, Э. И. Семенов, В. И. Егоров, В. И. Степанов, Г. Ш. Закирова. – Казань : ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2018. – 212 с.

64. Кост, С.А. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов / С.А. Кост, М.И. Стенко // Клиническая гематология животных. – М.: Колос, 1974 – С. 99.

65. Котик, А. Н. Микотоксикозы птиц / А. Н. Котик. – Борки, 1999. – 267 с.

66. Кочиш, И. И. Мясная продуктивность сельскохозяйственной птицы беларуси при профилактике микотоксикозов цеолитсодержащими кормовыми добавками / И. И. Кочиш, Е. А. Капитонова // Ветеринария и кормление. – 2021. – № 5. – С. 38-41.

67. Кочиш, И. И. Эффективность цеолитсодержащих добавок в бройлерном птицеводстве / И. И. Кочиш, Е.А. Капитонова, В.Н. Никулин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – № 3 (83). – С. 329-334.

68. Кравченко, Л. В. Биобезопасность. Микотоксины – природные контаминанты пищи / Л. В. Кравченко, В. А. Тутельян // Вопросы питания. – 2005. – Т. 74, № 3. – С. 3-13.

69. Кузнецов, А. Ф. Ветеринарная микология / А. Ф. Кузнецов. – СПб. : Лань, 2001. – 416 с.

70. Кузнецов, С. Г. Природные цеолиты в животноводстве и ветеринарии / С. Г. Кузнецов // С/х биология. Серия Биология животных. – 1993. – № 6. – С. 28-44.

71. Кундышев, П. П. Влияние бета-каротина на репродуктивные качества животных / П. П. Кундышев, А. С. Кузнецов // Зоотехния. – 2010. – № 10. – С. 21-22.

72. Курушина, А. А. Показатели углеводного обмена у свиней на фоне применения воднодиспергированной формы витамина А с гепатопротектором / А. А. Курушина, Е. Н. Любина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – № 2. – С. 84-88.

73. Лабораторные исследования в ветеринарии. – Биохимические и микологические : справочник / Б. И. Антонов, Т. Ф. Яковлева, В. И. Дерябина [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1991. – 288 с.

74. Лаврентьев, А. Ю. Цеолиты в кормлении молодняка сельскохозяйственных животных и птицы / А. Ю. Лаврентьев, Е. Ю. Немцева, Н. К. Кириллов. – Чебоксары : Чувашский госуниверситет, 2018. – 212 с.

75. Ленкова, Т. Н. Продуктивность бройлеров, получавших цеолиты в комбикормах / Т. Н. Ленкова, Т. А. Егорова, И. Г. Сысоева // Птицеводство. – 2019. – № 5. – С. 26-31.

76. Лечебно-профилактические свойства природного цеолита сахаптин при микотоксикозах у цыплят / О. А. Донченко, А. В. Авдеенко, А. М. Шадрин, В. А. Синицын // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2015. – № 3 (244). – С. 70-76.

77. Липосомальная форма β-каротина / И. М. Бушмакина, М. А. Мартынова, Е. В. Князева, П. А. Красочко // Ученые записки учреждения образовавния

Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2020. – Т. 56, № 2. – С. 77-83.

78. Любина, Е. Н. Роль минеральных элементов в регуляции процессов свободнорадикального окисления на фоне применения препаратов витамина А и бета-каротина / Е. Н. Любина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 3 (31). – С. 64-68.

79. Маликова, М. Г. Применение премиксов на основе цеолита из местных ресурсов в рационах коров / М. Г. Маликова, Ф. М. Шагалиев // Научное обеспечение инновационного развития агропромышленного комплекса регионов РФ : материалы Международной научно-практической конференции, Лесниково, 06 февраля 2018 года. – Лесниково : Курганская государственная сельскохозяйственная академия им. Т. С. Мальцева, 2018. – С. 829-835.

80. Матвеева, Е. Л. Патоморфологические изменения при смешанных микотоксикозах / Е. Л. Матвеева, А. В. Иванов, М. Я. Тремасов // Успехи медицинской микологии : материалы 3-го Всероссийского конгр. по медицинской микологии. – М. : Национальная академия микологии, 2005. – Т. V. – С. 146-147.

81. Мачихина, Л. И. Проблемы зернового комплекса России / Л. И. Мачихина // Хлебопродукты. – 2018. – № 1. – С. 34-37.

82. Меньшиков, В. В. Клиническая лабораторная аналитика / В. В. Меньшиков. – М. : Агат-Мед, 2002. – Т. 1. – С. 115-164.

83. Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты) / А. В. Иванов, В. И. Фисинин, М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди. – М. : Колос, 2010. – 392 с.

84. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика) / А. В. Иванов, М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди, А. К. Чулков. – М. : Колос, 2008. – 140 с.

85. Микотоксикологическая оценка кормов в Республике Татарстан / Э. И. Семенов, Н. Н. Мишина, С. А. Танасева, Р. М. Потехина, З. Х. Сагдеева, А. Р. Валиев, К. Х. Папуниди // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2018. – Т. 16. – С. 512-523.

86. 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.

87. Микотоксины / А. В. Иванов, В. И. Фисинин, М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди. – М. : ФГБНУ «Росинформагротех», 2012. – 136 с.

88. Микотоксины и безопасность продуктов питания: явные и скрытые угрозы / Н. В. Науменко, В. В. Ботвинникова, В. В. Сотникова, Л. Грживна, Н. В. Белоглазова // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 105-111.

89. Микулец, Ю. И. Взаимосвязь витаминов и биолементов. – М., 2015. – 186 с.

90. Микулец, Ю. И. Совместимость витаминов и биоэлементов в кормлении кроликов / Ю. И. Микулец, К. В. Харламов // Ветеринария и кормление. – 2019. – № 1. – С. 40-43.

91. Мирошниченко, П. В. Мониторинг кормов для крупного рогатого скота в краснодарском крае / П. В. Мирошниченко, Е. В. Панфилкина, А. Х. Шантыз // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2020. – Т. 9, № 1. – С. 168-171.

92. Мирошниченко, П. В. Экспериментальное воспроизведение сочетанного микотоксикоза свиней / П. В. Мирошниченко // Ветеринария. – 2007. – № 2. – С. 16-18.

93. Мозгов И. Е. Фармакология / И. Е.Мозгов. – М. : Агропромиздат, 1985. – С. 230-235.

94. Молянова, Г. В. Физиолого-биохимическое влияние естественного минерала цеолита воднита на статус коров в природных условиях Среднего Поволжья / Г. В. Молянова, В. И. Максимов, В. С. Григорьев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медецины им. Н. Э. Баумана. – 2018. – Т. 235, № 3. – С. 141-147.

95. Морфологические и биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и

цеолита / А. З. Мухарлямова, А. М. Тремасова, С. А. Танасева, Н. Г. Шангараев, П. В. Софронов, Э. И. Семенов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 238, № 2. – С. 133-138.

96. Морфологический и биохимический состав крови перепелов при применении в питании пробиотика и витамина С / Д. О. Сенцова, Р. Б. Темираев, С. Г. Козырев, А. А. Баева, З. Т. Баева, З. А. Кубатиева (Гутиева), М. Н. Мамукаев // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2018. – Т. 55, № 4. – С. 115-120.

97. Мухарлямова, А. З. Определение уровня афлатоксина В1 и витамина А при афлатоксикозе кроликов / А. З. Мухарлямова // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2020. – Т. 6, № 2(22). – С. 187-193.

98. Мухарлямова, А. З. Определение уровня загрязнения кормов афлатоксином В1 / А. З. Мухарлямова // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2023. – Т. 9, № 2(34). – С. 162-167.

99. Наличие микотоксинов в органах молодняка животных и птиц при скармливании кормов, загрязненных микотоксинами / Н. А. Солдатенко, Ю. Д. Дробин, Е. А. Бокун, А. Ю. Алиев // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2020. – № 4 (36). – С. 439-442.

100. Науменко, Н. В. Исследование рисков контаминации зерновых культур микотоксинами токсигенных плесеней / Н. В. Науменко, В.В. Ботвинникова // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2020. – Т. 8, № 2. – С. 74-81.

101. Нефедова, В. Н. Витамин А в животноводстве и ветеринарии / В. Н. Нефедова, С. В. Семенченко, А. С. Дегтярь // Научно-методический электронный журнал «Концепт». – 2015. – Т. 30. – С. 176-180.

102. Никитин, И. Н. Организация ветеринарного дела / И. Н. Никитин. – СПб. : Лань, 2012. – 288 с.

103. Омельченко, Н. Н. Профилактическая коррекция микрофлоры кишечника кроликов при дисбактериозе и ее влияние на иммунобиологический статус организма : специальность 06.02.02 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология автореф. дис. … канд. ветеринар. наук / Омельченко Николай Николаевич ; Кубан. гос. аграр. ун-т. – Краснодар, 2018. – 23 с.

104. Определение диквата и параквата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в объектах экомониторинга / И. М. Фицев, А. Ю. Лихачева, А. М. Сайфутдинов, А. З. Мухарлямова, С. Л. Мохтарова, Ж. Р. Насыбуллина // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. – 2021. – Т. 163, № 1. – С. 61-71.

105. Ортякова, И. М. Коррекция дефицита витаминов в рационе ремонтных самок нутрий препаратом Аминовитал / И. М. Ортякова // Студент года 2020 : сборник статей Международного научно-исследовательского конкурса. – Петрозаводск, 2020. – С. 361-369.

106. Особенности проявления хронического кормового микотоксикоза у лабораторных крыс в условиях эксперимента / М. П. Семененко, Е. В. Тяпкина, Е. В. Кузьминова, А. Г. Кощаев // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, № 4. – С. 777-786.

107. Отравление животных на свинокомплексе / М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди, Н. Г. Шангараев, С. О. Белецкий, А. В. Иванов // Свиноводство. – 2012. – № 1. – С. 67-69.

108. Отставнов, К. В. Диагностика и профилактика гиповитаминоза А у крупного рогатого скота / К. В. Отставнов, С. В. Козлов // Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук : материалы Международной научно-практической конференции обучающихся, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Колесова Александра Михайловича. – Саратов, 2021. – С. 370-373.

109. Павленко, В. Г. Витамин А и его значение для сельскохозяйственных животных / В. Г. Павленко // Проблемы эффективного использования научного потенциала общества : сборник статей по Международной научно-практической конференции. – Стерлитамак, 2021. – С. 27-29.

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

111. Петрянкин, Ф. Влияние кормления на иммунный статус организма животных (научный обзор) / Ф. Петрянкин, А. Лаврентьев, В. Шерне // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2018. – № 3. – С.41-46.

112. Пинюгин А. В. Справочник структур метаболитов микроскопических грибов / А. В. Пинюгин, О. М. Пинюгина, А. В. Шерстюк. – Кострома : Авантитул, 2018. – 640 с.

113. Повышение эффективности деконтаминации зерна пшеницы, загрязненного афлатоксином В1, посредством совместного использования агентов биодеградации токсина и ингибитора его биосинтеза / Т. М. Воинова, Л. А. Щербакова, С. Б. Поплетаева, В. Г. Джавахия // Сельскохозяйственная биология. – 2022. – Т. 57, № 1. – С. 141-150.

114. Подлесных, Д. К. Афлатоксины как определяющий фактор патогенеза у сельскохозяйственных животных / Д. К. Подлесных // Medicus. – 2019. – № 1 (25). – С. 22-24.

115. Попова, М. И. Антивитамины: механизм действия, распространение, применение / М. И. Попова, Е. И. Смирнова, А. С. Хацук // Бюллетень Северного государственного медицинского университета. – 2019. – № 1 (42). – С. 271-273.

116. Пораженность кормов грибами рода фузариум / О. К. Ермолаева, Р. М. Потехина, Л. Е. Матросова, Э. И. Семенов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2019. – Т. 239, № 3. – С. 121-124.

117. Потороко, И. Ю. Качество и безопасность пищевых продуктов: риски контаминации микотоксинами пищевого сырья / И. Ю. Потороко, Н. В. Науменко,

В. В. Ботвинникова // Инновационные технологии в пищевой промышленности и общественном питании : материалы VII Международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 12 октября 2020 г. – Екатеринбург : Уральский государственный экономический университет, 2020. – С. 118-122.

118. Применение сорбентов для профилактики нарушения обмена веществ и токсикозов животных / К. Х. Папуниди, Э. И. Семенов, И. Р. Кадиков, Р. У. Бикташев, Д. Х. Гатауллин. – Казань : ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2018. – 224 с.

119. Принципы диагностики отравлений животных / М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди, В. И. Степанов, Н. Г. Шангараев, А. В. Иванов // Ветеринария. – 2010. – № 6. – С. 56-58.

120. Присутствие микотоксинов в сочных кормах – риск развития микотоксикозов для высокопродуктивных коров / Ю. Г. Лаптев, В. Х. Меликиди, Е. А. Бражник, А. В. Дубровин // Успехи медицинской микологии. – 2018. – Т. 19. – С. 317-321.

121. Проблема микотоксикозов при завозе и адаптации импортируемого скота / А. К. Чулков, А. В. Иванов, Э. И. Семенов, Л. Е.Матросова // Ветеринарный врач. – 2007. – Спецвып. – С. 55-56.

122. Проблемы микотоксикозов в Российской Федерации / М. Я. Тремасов, Э. И. Семенов, С. А. Танасева, В. П. Коростелева, Ю. М. Тремасов // Товароведение и экспертиза, производство пищевых и кормовых продуктов, обеспечение их качества и безопасности : материалы Международной научно-практической конференции. – 2016. – С. 224-230.

123. Продуктивность цыплят-бройлеров при микотоксикозе на фоне использования сорбентов / С. А. Танасева, О. К. Ермолаева, Н. Н. Мишина, Е. Ю. Тарасова, А. Р. Валиев // Успехи медицинской микологии. – 2021. – Т. 22. – С. 249-253.

124. Пыхтина, Л. А. Повышение эффективности использования отходов технических производств при откорме молодняка крупного рогатого скота / Л. А. Пыхтина, В. Е. Улитько, О. А. Десятов // Зоотехния. – 2018. – № 7. – С. 13-17.

125. Рабинович, М. И. Энтеросорбция- важнейший метод лечения животных / М. И. Рабинович // Новые энтеросорбенты и фармакологически активные вещества и их применение в ветеринарии и животноводстве : мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию проф. М. И. Рабиновича. – Троицк, 2002. – С. 83-86.

126. Ребезов, М. Д. Сорбционная способность природных цеолитов / М. Д. Ребезов, Л. Е. Покрамович, Н. Л. Медяник [и др.] // Новые энтеросорбенты и фармакологически активные вещества и их применение в ветеринарии и животноводстве : мат. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию проф. М. И. Рабиновича. – Троицк, 2002. – С. 87-89.

127. Режко, О. А. Роль витаминов А и D в кормлении животных / О. А. Режко // Молодежная наука как фактор и ресурс опережающего развития : сборник статей V Международной научно-практической конференции. – Петрозаводск, 2021. – С. 337-345.

128. Резниченко, Л. В. Результаты испытаний сорбентов при экспериментальном микотоксикозе цыплят-бройлеров / Л. В. Резниченко, А. А. Резниченко, Ф. К. Денисова // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2019. – № 2 (12). – С. 123-128.

129. Рекомендации по кормлению сельскохозяйственной птицы : методические рекомендации / В. И. Фисинин, Ш. А. Имангулов, И. А. Егоров, Т. М. Околелова. – Сергиев Посад, 2006. – 142 с.

130. Романов, К. И. Влияние антиоксидантных препаратов разных механизмов действия на процессы перекисного окисления липидов у новотельных коров : специальность 03.03.01 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология» : дис. … канд. биол. наук / Романов Кирилл Игоревич ; ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К. А. Тимирязева». – Рязань, 2021. – 107 с.

131. Савинова, А. А. Действие антивитаминов на организм / А. А. Савинова, Л. М. Еременко // Инновационный дискурс развития современной науки и

технологий : сборник статей Международной научно-практической конференции. – Петрозаводск, 2021. – С. 146-149.

132. Сальникова, Е. В. Методы концентрирования и разделения : методические указания / Е. В. Сальникова, Е. А. Осипова. – Оренбург : ОГУ, 2019. – 67 с.

133. Сандакчи, Д. Н. Авитаминоз и гиповитаминоз а у сельскохозяйственных животных / Д. Н. Сандакчи, С. В. Козлов // Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук : материалы Международной научно-практической конференции обучающихся, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Колесова Александра Михайловича. – Саратов, 2021. – С. 382-388.

134. Саркисов, А. Х. Микотоксикозы / А. Х. Саркисов. – М. : Сельхозиздат, 1954. – 216 с.

135. Святогоров, В. А. Диагностика гипо- и авитаминоза А у телят / В. А. Святогоров // Через инновации в науке и образовании к экономическому росту АПК : мат. Междунар. научно-практ. конф. – Персиановский, 2008. – Т. 3. – С. 107-110.

136. Симонова, Л.Н. Нарушения обмена веществ у суточных цыплят-бройлеров / Л. Н. Симонова, Ю. И. Симонов // Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных : материалы 20-й национальной научно-практической конференции с международным участием по патологической анатомии животных. – Уфа, 2020. – С. 198-202.

137. Скопичев, В. Г. Зоотехническая физиология : учеб. пособие / В. Г. Скопичев, Н. Н. Максимюк, Б. В. Шумилов. – СПб. : Изд-во ООО «Квадро», 2013. – 464 с.

138. Слащилина, Т. В. Авитаминозы крупного рогатого скота / Т. В. Слащилина // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции : материалы III-й Международной конференции по ветеринарно-санитарной экспертизе. – Воронеж , 2019. – С. 114-117.

139. Случаи массового отравления животных, птиц и рыб в некоторых регионах Российской Федерации и стран СНГ / Э. И. Семёнов, А. М. Тремасова, Л. Е. Матросова, И. Р. Кадиков, В. И. Егоров, Р. М. Асланов, Н. М. Василевский // Ветеринария. – 2021. – № 8. – С. 39-44.

140. Смирнова, И. Р. Современные методы контроля витаминов в кормах, кормовых добавках и биоматериале / И. Р. Смирнова, Л. П. Сатюкова // Ветеринария. – 2010. – № 11. – С. 37–40.

141. Современные методы борьбы со стрессами в птицеводстве и свиноводстве: концепция витагенов в действии / П. Ф. Сурай, В. И. Фисинин, Е. В. Шацких, Е. Н.Латыпова // СФЕРА: Технологии. Корма. Ветеринария. – 2017. – № 2 (5). – С. 40–43.

142. Современные направления ветеринарно-санитарной науки в обеспечении биологической и продовольственной безопасности / В. И. Дорожкин, А. М. Смирнов, А. В. Суворов, Н. И. Попов, Н. К. Гуненкова // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 2. – С. 37-39.

143. Соляник, В. А. Витамины и воспроизводительная продуктивность свиноматок / В. А. Соляник // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2019. – № 3. – С. 14-17.

144. Сравнительная оценка эффективности использования сорбентов в комбикормах для поросят / В. Ф. Энговатов, А. М. Морозов, А. Ш. Набиуллин, К. Л. Косарев, А. В. Кудряшов // Зоотехния. – 2015. – № 11. – С. 10-12.

145. Сранительный анализ структурных изменений плаценты крыс при эндогенной интоксикации и протекции цеолитами / Е. А. Попп, Н. Н. Дубинина, С. В. Залавина, Г. В. Правоторов // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2019. – Т. 19, № 1. – С. 91-93.

146. Сулайманова, Г. В. Механизмы действия микотоксинов на иммунную систему птиц / Г. В. Сулайманова // Наука и образование: опыт, проблемы, перспективы развития : материалы Международной научно-практической конференции. – Красноярск, 2021. – С. 84.

147. Танасева, С. А. Мониторинг афлатоксинов в кормах из Рязанской области / С. А. Танасева, И. В. Босяков // Актуальные проблемы ветеринарной медицины : материалы Международной научно-практической конференции посвященной 90-летию со дня рождения профессора В. А. Киршина, Казань, 05 -06 апреля 2018 г. – Казань : Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2018. – С. 191-193.

148. Таов, И. Х. Иммунная реактивность коров в зависимости от физиологического состояния, уровня витаминного и белкового кормления / И. Х. Таов, Ц. Б. Кагермазов, А. М. Хуранов // Аграрная Россия. – 2019. – № 4. – С. 29-32.

149. Тарасова, Е. Ю. Профилактическая эффективность углеродного адсорбента на фоне Т-2 микотоксикоза / Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова, Р. М. Потехина // Успехи медицинской микологии. – 2021. – Т. 22. – С. 254-260.

150. Телкова, О. Л. Влияние премикса «Вита Прем» на состояние здоровья и продуктивность молодняка свиней / О. Л. Телкова // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сборник научных трудов. – Гродно, 2020. – С. 242-255.

151. Токсигенные изоляты, выделенные из некоторых образцов кормов, производимых сельхозпредприятиями Республики Татарстан / С. А. Танасева, О. К. Ермолаева, Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова, Э. И. Семенов, З. Х. Сагдеева, А. Р. Валиев, А.В. Маланьев // Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий : материалы VIII-й Международной научно-практической конференции, посвященной Году науки и технологий в России, 265-летию присоединения алтайского народа в состав Российского государства и 30-летию образования Республики Алтай. – Горно-Алтайск, 2021. – С. 179-182.

152. Токсигенные свойства микроскопических грибов / Н. Р. Ефимочкина, И. Б. Седова, С. А. Шевелева, В. А. Тутельян // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2019. – № 45. – С. 6-33.

153. Тремасов, М. Я. Проблема микотоксикозов животных / М. Я. Тремасов, А. В. Иванов, Э. И. Семенов // От теории – к практике: вопросы современной

ветеринарии, биотехнологии и медицины : матер. Науч.-пакрич. конф. – Саратов, 2011. – С. 308-310.

154. Тремасов, М. Я. Профилактика микотоксикозов животных в Росии / М. Я. Тремасов // Ветеринария. – 2002. – № 9. – С. 3-8.

155. Тутельян, В. А. Анализ результатов мониторинга загрязнения микотоксинами продовольственного зерна урожаев 2005-2016 гг. / А. В. Тутельян // Успехи медицинской микологии. – 2018. – Т. 19. – С. 329-330.

156. Тутельян, В. А. Микотоксины / В. А. Тутельян, Л. В. Кравченко. – М. : Медицина, 1985. – 320 с.

157. Ультраструктурная оценка почек поросят при комбинированном отравлении микотоксинами на фоне совместного применения шунгита и цеолита / М. М. Сальникова, В. Р. Саитов, Ф. З. Баймухаметов, Э. И. Семенов, Е. Ю. Тарасова, К. В. Перфилова, В. В. Иванов // Аграрные проблемы Горного Алтая и сопредельных регионов : материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 90-летию Горно-Алтайского НИИ сельского хозяйства и 100-летию Министерства сельского хозяйства Республики Алтай. – Барнаул, 2020. – С. 330.

158. Устинова, Д. Э. Витамины / Д. Э. Устинова // Молодежь и наука. – 2019. – № 2. – С.47-49.

159. Устинова, Д. Э. Нарушение витаминного обмена у животных и его фармакокоррекция / Д. Э. Устинова // Молодежь и наука. – 2019. – № 7-8. – С. 20-25.

160. Федоренко, И. С. Лечение каротин–дефицитной гемералопии крупного рогатого скота калмыцкой породы / И. С. Федоренко // Приоритетные научные исследования и инновационные технологии в АПК: наука – производству : материалы Национальной научно-практической конференции. – 2019. – С. 447-451.

161. Фетисов, Л. Н. Анализ результатов мониторинга загрязнения кормов микотоксинами / Л. Н. Фетисов, Н. А. Солдатенко, В. А. Русанов // Современная микология в России : материалы 2-го Съезда микологов России. – М. : Национальная академия микологии, 2008. – С. 114-118.

162. Филиппова, О. Б. Значение витаминно-минерального питания коров в технологии проимзводства молока / О. Б. Филиппова // Наука в Центральной России. – 2018. – № 6 (36). – С. 43-50.

163. Фисинин, В. И. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы : методические рекомендации / В. И. Фисинин, Л. Ф. Дядичкина, Ю. С. Голден. – Сергиев Посад, 2005. – 120 с.

164. Фузариотоксины и афлатоксин В1 в продовольственном зерне кукурузы в Российской Федерации / И. Б. Седова, Л. П. Захарова, М. Г. Киселева, З. А. Чалый, В. А. Тутельян // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2018. – Т. 21. – С. 29-137.

165. Хайруллин, Д. Д. Роль углеводно-витаминно-минерального концентрата в кормлении коз / Д. Д. Хайруллин, Ш. К. Шакиров, М. В. Антонов // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 143-147.

166. Хохлов, В. В. Опыт по восполнению недостатка витаминов в крови овцематок путём применения препарата НИТАМИН / В. В. Хохлов, А. А. Собко // Вестник мясного скотоводства. – 2017. – № 3 (99). – С. 196-201.

167. Хохрин, С. Н. Кормление животных с основами кормопроизводства : учебник / С. Н. Хохрин, К. А. Рожков, И. В. Лунегова. – СПб. : Изд-во «Проспект Науки», 2016. – 480 с.

168. Хохрин, С. Н. Кормление крупного рогатого скота, овец, коз и лошадей : справочное пособие / С. Н. Хохрин. – СПб. : ПрофиКС, 2003. – С. 247-16.

169. Чернова, А. В. Исследование проблемы контаминации пищевых продуктов токсигенными микотоксинами / А. В. Чернова, А. В. Петроченкова, Е. О. Демиденко // Научные труды Дальрыбвтуза. – 2023. – Т. 63, № 1. – С. 28-35.

170. Чиркин, А. А. Клинический анализ лабораторных данных / А. А. Чиркин. – М. : Медицинская литература, 2007. – 384 с.

171. Чулков, А. К. О профилактики микотоксикозов животных / А. К. Чулков, М. Я. Тремасов, А. В. Иванов // Ветеринария. – 2007. – № 12. – С. 8-10.

172. Шадрин, А. М. Применение природных цеолитов для профилактики кормовых стрессов у животных и птиц / А. М. Шадрин, В. А. Синицын // Ветеринария и кормление. – 2008. – № 3. – С. 35.

173. Шевченко, Т. Ф. Изменение эритроцитов при хронической интоксикации организма метаболитами грибов Aspergillus flavus / Т. Ф. Шевченко, Н. А. Курикунова // Патол., физиол. и экспериментальная терапия. – 1995. – № 2. – С. 23-24.

174. Шкуратова, И. А. Клинико-морфологические и биохимические проявления полимикотоксикозов у высокопродуктивных коров / И. А. Шкуратова, Л. И. Дроздова, А. И. Белоусов // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 4. – С. 14-17.

175. Шкуратова, И. А. Метаболические параметры крови высокопродуктивных коров при микотоксикозах / И. А. Шкуратова, А. И. Белоусов, А. С. Красноперов // Инновации и продовольственная безопасность. – 2019. – № 1 (23). – С. 124-130.

176. Экономическая эффективность скармливания комплексной минерально-витаминной кормовой добавки «Надежда» в составе рациона телят / М. Т. Сабитов, А. Р. Фархутдинова, И. М. Фархутдинов, М. Г. Маликова // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2020. – № 1 (53). – С. 106-110.

177. Эффективность адсорбентов при сочетанном микотоксикозе цыплят-бройлеров / С. А. Танасева, Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова, Э. И. Семенов // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 4. – С. 50-56.

178. Эффективность комплексного препарата на основе вторичных растительных ресурсов при микотоксикозе сельскохозяйственной птицы / Е. В. Кузьминова, Е. П. Долгов, М. П. Семененко, П. В. Мирошниченко // Ветеринария сегодня. – 2020. – № 4 (35). – С. 272-276.

179. Эффективность энтеросорбентов различной природы при полимикотоксикозе свиней / Н. Н. Мишина, Э. И. Семенов, А. Ф. Хасиятуллин, Р. М. Потехина, Л. Е. Матросова, З. А. Канарская, В. М. Гематдинова // Ветеринария. – 2020. – № 11. – С. 49-53.

180. A rapid and sensitive HPLC-FLD method for the determination of retinol and vitamin e isomers in human serum / Y. Yang, D. Lu, D. Yang, S.Yin, J. Zhang, B. Zheng, Y. Li, C. Sun // Current Pharmaceutical Analysis. – 2019. – Vol. 15, № 7. – P. 745-752.

181. A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: An update from 2010 / Y. Zhang, W.E. Zhou, J.Q. Yan, M. Liu, Y. Zhou, X. Shen, Y. L. Ma, X. S. Feng, J. Yang, G.H. Li // Molecules. – 2018. – Vol. 23. – P. 1-25.

182. Abd El-Kader M.F. Ameliorative effect of dietary lipopolysaccharides on Oreochromis niloticus juveniles submitted to aflatoxin B1-induced oxidative stress and bacterial challenge / M. F. Abd El-Kader, M. Shukry, M. A.O. Dawood, M. M. Hassan, F. Farrag, A. Omar, H. B. El-Sawy, M. A. Abd Alaziz, H. S. Hamouda, M. F. Abd - Elghany, E.M. Moustafa // Aquaculture Research. – 2021. – Vol. 52 (8). – P. 3660-3676.

183. Abdelhady, D. H. The ameliorative effect of aspergillusawamori on aflatoxin b>1>-induced hepatic damage in rabbits / D. H. Abdelhady, M. A. El-Abasy, S. S. E. Abou-Asa, Z. I. Elbialy, M. Shukry, A. H. Hussein, A. A. Saleh, M. A. El-Magd // World Mycotoxin Journal. – 2017. – Vol. 10, № 4. – P. 363-373.

184. Aboobeker, V. Inhibition of microsomal activation of aflatoxin B1 by 3-dehydroretinol and 3-dehydroretinyl palmitate / V. Aboobeker, N. Sarma, V. Goswami // Indian J. Exp. Biol. – 1997. – Vol. 35. – P. 1125-1127.

185. Accinelli, C. Biological control of aflatoxin production in corn using non-aflatoxigenic Aspergillus flavus administered as a bioplastic-based seed coating / C. Accinelli, H. K. Abbas, N. Little, J. K. Kotowicz, W. T. Shier // Crop Prot. J. – 2018. – Vol. 107. – P. 87-92.

186. Adegbeye, M. J. Mycotoxin toxicity and residue in animal products: prevalence, consumer exposure and reduction strategies—a review / M. J. Adegbeye, P. R. K. Reddy, C. A. Chilaka, O. B. Balogun, M. M. M. Y. Elghandour, R. R. Rivas-Caceres, A. Z. M. Salem // Toxicon. – 2020. – Vol. 177. – P. 96-108.

187. Aflatoxin B 1 metabolism: Regulation by phase I and II metabolizing enzymes and chemoprotective agents / J. Deng, L. Zhao, N. Y. Zhang, N. A. Karrow, C. S. Krumm, D. S. Qi, L. H. Sun // Mutat. Res. Rev. Mutat. Res. – 2018. – Vol. 778. – P. 79–89.

188. Aflatoxin B1 (AFB1) production by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus on ground Nyjer seeds: the effect of water activity and temperature / D. Gizachew, C. H. Chang, B. Szonyi, S. De La Torre, W. T. E. Ting // Int. J. Food Microbiol. – 2019. – Vol. 296. – P. 8–13.

189. Aflatoxins / R. W. Coppock, R. G. Christian, B. J. Jacobsen, R. C. Gupta // Veterinary Toxicology. Basic and Clinical Principles, Academic Press, Cambridge, United States. – 2018. – P. 983-994.

190. Akinola, S. A. Behaviour of Aspergillus parasiticus in aflatoxin production as influenced by storage parameters using response surface methodology approach / S. A. Akinola, C. N. Ateba, M. Mwanza // International Journal of Food Microbiology. – 2021. – Vol. 357. – P. 109369.

191. Alleviation of mycotoxin biodegradation agent on zearalenone and deoxynivalenol toxicosis in immature gilts / D. Shi, J. Zhou, L. Zhao, X. Rong, Y. Fan, H. Hamid, W. Li, C. Ji, Q. Ma // J. Anim. Sci. Biotechnol. – 2018. – Vol. 9. – P. 2-11.

192. Aly, S. A. Effect of naturally contaminated feed with aflatoxins on performance of laying hens and the carryover of aflatoxin B residues in table eggs / S. A. Aly, W. Anwer // Pakistan J. Nutr. – 2009. – Vol. 8. – P. 181-186.

193. Araujo, C. R. C. Improved spectrophotometric vitamin A assay / C. R. C. Araujo, H. Flores // Clin. Chem. – 1978. – Vol. 24. – P. 386-396.

194. Assessment of the efficacy of a grape seed waste in counteracting the changes induced by aflatoxin B1 contaminated diet on performance, plasma, liver and intestinal tissues of pigs after weaning / I. Taranu, D. E. Marin, M. Palade, G. C. Pistol, V. S. Chedea, M. A. Gras, C. Rotar // Toxicon. – 2019. – Vol. 162. – P. 24–31.

195. Bassir, O. Effect of vitamin A deficiency of anticoagulant action of aflatoxin B_1 / O. Bassir, A. A. Adekunle, Z. S. Okoye // Toxicon. – 1980. – Vol. 18. – P. 121-123.

196. Bayezit, M. Aflatoxin M1 in UHT cow milk samples collected in burdur, Turkey / M. Bayezit, S.B. Erdemli Köse, F.S. Kocasari // J Health Sci Inst. – 2019. – Vol. 7. – P. 1-7.

197. Bhat, P. V. High-performanse liquid chromatography of vitamin acjmpounds / P. V. Bhat, P. R. Sundaresan // CRC Crit. Rev. Anal. Chem. – 1988. – Vol.20, № 3. – P. 197-219.

198. Biocontrol of Aspergillus and Fusarium Mycotoxins in Africa: Benefits and Limitations / V. Kagot, S. Okoth, M. De Boevre, S. De Saeger // Toxins. – 2019. – Vol. 11. – P. 1-9.

199. Biomin Mycotoxin Survey (2019). – URL : https://www.biomin.net/science-hub/biomin-mycotoxin-survey-h1-2019-results/ (дата обращения 14.05.2021).

200. Bradley, D. W. A clinical evaluation of an improved TFA micromethod for plasma and serum vitamin A / D. W. Bradley, C. L. Hornbeck // Biochem. Med. – 1973. – Vol. 7. – P. 78-86.

201. Bryden, W. The influence of vitamin A status on the response of chickens to aflatoxin B_1 and changes in liver lipid metabolism associated with aflatoxicosis / W. Bryden, R. B. Cumming, D. Balnave // Brit. J. Nutr. – 1979. – Vol. 41. – P. 529-540.

202. Busk, L. Retinol (vitamin A) as an inhibitor of the mutagencity of aflatoxin B / L. Busk, U. Ahlborg // Toxicol. Lett. – 1980. – Vol. 6. – P. 243-249.

203. Colella, C. Resent advances in natural zeolite applications based on external surface interaction with cations and molecules / C. Colella // Studies in Surface Science and Catalysis. – 2007. – Vol. 170. – P. 2063-2073.

204. Comparative ameliorative actions of extracted bradykinin potentiating fraction from cobra snake venom and synthetic antioxidants on hepatic tissue of aflatoxicosed rats / A. Y. Nassar, S. A. Mahgoub, H.-E.-D. M. Omar, S. M. Bakkar, A. A. Osman // Journal of Applied Animal Research. – 2020. – Vol. 48 (1). – P. 593-602.

205. Comparative study for the determination of fat-soluble vitamins in rice cereal baby foods using HPLC-DAD and UHPLC-APCI-MS/MS / M. Katsa, N. Papalouka, T. Mavrogianni, I. Papagiannopoulou, M. Kostakis, C. Proestos, N. S. Thomaidis // Foods. – 2021. – Vol. 10 (3). – P. 648.

206. Curcumin confers hepatoprotection against AFB1–induced toxicity via activating autophagy and ameliorating inflammation involving Nrf2/HO-1 signaling pathway / I. Muhammad, X. Wang, S. Li, R. Li, X. Zhang // Mol. Biol. Rep. – 2018. – Vol. 45. – P. 1775–1785.

207. Current status of major mycotoxins contamination in food and feed in Africa / H. Kebede, X. Liu, J. Jin, F. Xing // Food Control. – 2020. – Vol. 110. – P. 106975.

208. Detoxification of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria and hydrated sodium calcium aluminosilicate in broiler chickens / N. Liu, J. Wang, Q. Deng, K. Gu, J. Wang // Livest. Sci. – 2018. – Vol. 208. – P. 28–32.

209. Detoxification of aflatoxin B1 in broiler chickens by a triple-action feed additive / H. Guo, J. Chang, P. Wang, Q.Yin, C. Liu, S. Li, Q. Zhu, M. Yang, X. Hu // Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment. – 2021. – Vol. 38 (9). – P. 1583-1593.

210. Development and optimization of simultaneous determination of fat soluble vitamins by liquid chromatography tandem mass spectrometry / S. Ertugrul, C. Yucel, E. Sertoglu, Y. Ozkan, T. Ozgurtas // Chemistry and Physics of Lipids. – 2020. – Vol. 230. – P. 104932.

211. Diaz, G.J. An unusually high production of hepatic aflatoxin B1-dihydrodiol, the possible explanation for the high susceptibility of ducks to aflatoxin B1 / G.J. Diaz, H. W. Murcia // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9 (1). – P. 8010-8021.

212. Dietary aflatoxin impairs flesh quality through reducing nutritional value and changing myofiber characteristics in yellow catfish (Pelteobagrus fulvidraco) / Z. Y. Zhang, Z. Y. Jiang, H. B. Lv, J. Y. Jin, L. Q. Chen, M. L. Zhang, Z. Y. Du, F. Qiao // Anim. Feed Sci. Technol. – 2021. – Vol. 274. – P. 114764.

213. Dietary vitamin A deficiency reduces growth performance, immune function of intestine, and alters tight junction proteins of intestine for juvenile hybrid grouper / D. Liang, Q. Yang, B. Tan, X. Dong, S. Chi, H. Liu, S. Zhang // Fish and Shellfish Immunology. – 2020. – Vol. 107. – P. 346-356.

214. Dual role of dietary curcumin through attenuating AFB1-induced oxidative stress and liver injury via modulating liver phase-I and phase-II enzymes involved in

AFB1 bioactivation and detoxification / I. Muhammad, H. Wang, X. Sun, X. Wang, M. Han, Z. Lu, P. Cheng, M.A. Hussain, X. Zhang // Front. Pharmacol. – 2018. – Vol. 9. – P. 554-563.

215. Effect of bentonite on the health and dairy production of cows submitted to a diet naturally contaminated by mycotoxins / M. S. Olivera, D. Di Domenico, G. R.Thomaz, G. Garbossa, C.R. Depaoli, A.C.A. Abreu, H.G. Bertagnon // Semina:Ciencias Agrarias. – 2021. – Vol. 42, № 6. – P. 3337-3354.

216. Effect of dietary vitamin A supplementation on growth performance, nutrient digestibility, serum parameters and liver histology of growing-furring male mink kits (Neovison vison) / W. X. Nan, H. Z. Si, H. H. Zhang, L. L. Mu, G. Y. Li, Y. J. Lou // Animal Feed Science and Technology. – 2021. – Vol. 276, № 114898. – P. 1-10.

217. Effect of probiotic supplement on aflatoxicosis and gene expression in the liver of broiler chicken / R. Salem, N. El-Habashi, S. E. Fadl, O. A. Sakr, Z. I. Elbialy // Environ. Toxicol. Pharmacol. – 2018. – Vol. 60. – P. 118–127.

218. Effects of aflatoxin B1 on reproductive performance of farmed Nile tilapia / E. Marijani, H. Charo-Karisa, G.J.B. Gnonlonfin, E. Kigadye, S. Okoth // International Journal of Veterinary Science and Medicine. – 2019. – Vol. 7 (1). – P. 35-42.

219. Effects of biological and mineral compounds in aflatoxin-contaminated diets on blood parameters and immune response of broiler chickens / M. Barati, M. Chamani, S. N. Mousavi, S. A. Hoseini, M. Taj Abadi Ebrahimi // J. Appl. Anim. Res. – 2018. – Vol. 46. – P. 707-713.

220. Effects of licorice extract, probiotic, toxin binder and poultry litter biochar on performance, immune function, blood indices and liver histopathology of broilers exposed to aflatoxin-B1 / N. Rashidi, A. Khatibjoo, K. Taherpour, M.Akbari-Gharaei, H. Shirzadi // Poultry Science. – 2020. – Vol. 99 (11). – P. 5896-5906.

221. Efficacy of Bacillus subtilis ANSB060 biodegradation product for the reduction of the milk aflatoxin M1 content of dairy cows exposed to aflatoxin B1 / Y. Guo, Y. Zhang, C. Wei, Q. Ma, C. Ji, J. Zhang, L. Zhao // Toxins. – 2019. – Vol. 11. – P. 161-171.

222. El-Sheshtawy, S. M. Aflatoxicosis in Pekin duckling and the effects of treatments with lycopene and silymarin / S. M. El-Sheshtawy, A. F. El-Zoghby, N. A. Shawky, D. H. Samak // Veterinary World. – 2021. – Vol. 14 (3). – P. 788-793.

223. Eskola, M. Overview of the activities of the European Food Safety Authority on mycotoxins in food and feed / M. Eskola, A. Altieri, J. Galobart // World Mycot. J. – 2018. – Vol. 11. – P. 277-289.

224. Evaluation of cellulosic polymers and curcumin to reduce Aflatoxin B1 toxic effects on performance, biochemical, and immunological parameters of broiler chickens / B. Solis-Cruz, D. Hernandez-Patlan, V. M. Petrone, K. P. Pontin, J. D. Latorre, E. Beyssac, X. Hernandez-Velasco, R. Merino-Guzman, C. Owens, B. M. Hargis, R. Lopez-Arellano // Toxins. – 2019. – Vol. 11. – P. 121-141.

225. Fantinati, P. Ensuring High quality corn storage: should we trust our feed to deliver cows dairy performance? / P. Fantinati // Biomin Rumin. – 2018. – № 57. – P. 1-12.

226. Fluorometric determination of vitamin A in human blood and liver / J. N. Thompson, P. Erdody, R. Brien, T.K. Murray // Biochem. Med. – 1971. – Vol. 5. – P. 67-89.

227. Fouad, A.M. Harmful effects and control strategies of aflatoxin B1 produced by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus strains on poultry / A. M. Fouad, D. Ruan, H. K. El-Senousey, W. Chen, S. Jiang, C. Zheng // Toxins. – 2019. – Vol. 11. – P. 176-197.

228. Gambacorta, L. Pig urinary concentration of mycotoxins and metabolites reflects regional differences, mycotoxin intake and feed contaminations / L. Gambacorta, M. Olsen, M. Solfrizzo // Toxins. – 2019. – Vol. 11. – P. 378.

229. García-Pérez, O. D. Effects of conjugated linoleic acid and curcumin on growth performance and oxidative stress enzymes in juvenile Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) feed with aflatoxins / O. D. García-Pérez, M. Tapia-Salazar, M. G. Nieto-López, J. C. Cruz-Valdez, M. Maldonado-Muñiz, L. M. Guerrero Guerrero, L. E. Cruz-Suárez, A. G. Marroquín-Cardona // 2020. – Vol. 51 (3). – P.1051-1060.

230. Hosotani, K. Improved simultaneous determination method of β-carotene and retinol with saponification in human serum and rat liver / K. Hosotani, M. Kitagawa // J. Chrom. B. – 2003. – Vol. 791. – P. 305-313.

231. In vitro assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenone mycotoxicoses / M. Sabater-Vilar, H. Malekinejad, M. H. J. Seiman [et al.] // Mycopathologia. – 2007. – Vol. 163 (2). – P. 81-90.

232. Inclusion of a phytogenic bend in broiler diet as a performance enhancer and anti-aflatoxin agent: Impacts on health, performance, and meat quality / E. H. Armanini, M. M. Boiago, P. V. de Oliveira, E. Roscamp, J. V. Strapazzon, A. G. de Lima, P. M. Copetti, V. M. Morsch, F.C.de Oliveira, R. Wagner, J.M. Santurio, G.da Rosa, A.S.Da Silva // Research in Veterinary Science. – 2021. – Vol. 137. – P. 186-193.

233. Individual and combined mycotoxins deoxynivalenol, nivalenol, and fusarenon-X induced apoptosis in lymphoid tissues of mice after oral exposure / S. Aupanun, S. Poapolathep, P. Phuektes, M. Giorgi, Z. Zhang, I. P. Oswald, A. Poapolathep // Toxicon. – 2019. – Vol. 165. – P. 83-94.

234. Isolation, Identification and Characterization of Paenibacillus pabuli E1 to Explore Its Aflatoxin B1 Degradation Potential / G. Li, X. Li, L. Dong, C. Li, P. Zou, M. K. Saleemi, B. Murtaza, B. Jin, H. Zhao, L. Wang, S. Li, H. Yang, Y. Xu // Current Microbiology. – 2021. – Vol. 78 (10). – P. 3686-3695.

235. Jenkins, T. Promote higher performance level: keeping aflatoxin out of milk / T. Jenkins // Rumin Issue. – 2018. – Vol. 61. – P. 1-16.

236. Kazuo, N. Cadmium-induced elevation of blood pressure / N. Kazuo, N. Hiroko. // Trace elem. Exp. Med. – 2000. – № 1. – P. 155-163.

237. Khanian, M. Alleviation of aflatoxin-related oxidative damage to liver and improvement of growth performance in broiler chickens consumed Lactobacillus plantarum 299v for entire growth period / M. Khanian, M. A. Karimi-Torshizi, A. Allameh // Toxicon. – 2019. – Vol. 158. – P. 57–62.

238. Lactoferrin inhibits aflatoxin B1- and aflatoxin M1-induced cytotoxicity and DNA damage in Caco-2, HEK, Hep-G2, and SK-N-SH cells / N. Zheng, H. Zhang, S. Li,

J. Wang, J. Liu, H. Ren, Y. Gao // Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology, 150. – 2018. – P. 77-85.

239. LC-MS/MS quantification of fat soluble vitamers – A systematic review / G. R. P. Arachchige, E. B. Thorstensen, M. Coe, E. J. McKenzie, J. M. OSullivan, C. J. Pook // Analytical Biochemistry. – 2021. – Vol. 613. – P. 980.

240. Lee, S. Inhibitory effects of naturally occurring compounds on aflatoxin B1 biotransformation / S. Lee, B. Campbell, R. Molyneux // J. Agr. And Food Chem. – 2001. – Vol. 49, № 11 – P. 5171-5177.

241. Levasseur-Garcia, C. Updated Overview of Infrared Spectroscopy Methods for Detecting Mycotoxins on Cereals (Corn, Wheat, and Barley) / C. Levasseur-Garcia // Toxins. – 2018. – Vol. 10, №1. – P. 3-51.

242. Li, J. The carcinogenicity of aflatoxin B1 / J. Li, M. Liu // Aflatoxin B1 Occurrence, Detection and Toxicological Effects. IntechOpen. – 2019. – P. 1-11.

243. Liew, W. P. P. Mycotoxin: its impact on gut health and microbiota / W. P. P. Liew, S. Mohd-Redzwan // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2018. – Vol. 8. – P. 1-17.

244. Liquid chromatography as candidate reference method for the determination of vitamins A and E in human serum / Q. Pan, M. Shen, T. Yu, X. Yang, Q. Li, B. Zhao, J. Zou, M. Zhang // Journal of Clinical Laboratory Analysis/ – 2020. – Vol.34, № 12. – P. 1-7.

245. Liquid–Liquid Microextraction Based on Acid–Base-Induced Deep Eutectic Solvents for Determination of β-Carotene and Lycopene in Fruit Juices / H. Li, C. Zhao, H. Tian, Y. Yang, W. Li // Food Analytical Methods. – 2019. – Vol. 12 (10). – P. 2777-2784.

246. Mimosa tenuiflora aqueous extract: role of condensed tannins in anti-aflatoxin B1 activity in Aspergillus flavus / G. Hernandez, L. Cadenillas, A.E. Maghubi, I. Caceres, V. Durrieu, C. Mathieu, J.D. Bailly // Toxins. – 2021. – Vol. 13 – P 391-406.

247. miR-155 influences cell-mediated immunity in Balb/c mice treated with aflatoxin M1 / K. Shirani, B. Riahi Zanjani, S. Mehri, K. Razavi-Azarkhiavi, A. Badiee, A. W. Hayes, J. P. Giesy, G. Karimi // Drug and Chemical Toxicology. – 2021. – Vol. 44 (1). – P. 39-46.

248. Mixture toxic impacts and the related mechanism of aflatoxin B1 and deoxynivalenol on embryonic zebrafish (Danio rerio) / Y. Wang, O. Wang, C. Ji, X. Guo, G. Yang, D. Wang, H. Weng, Y. Qian, C. Chen // Environmental Sciences Europe. – 2021. – Vol. 33 (1), № 86.

249. Modified QuEChERS Extraction and HPLC-MS/MS for Simultaneous Determination of 155 Pesticide Residues in Rice (Oryza sativa L.) / M. G. Melo, A. Carqueijo, A. Freitas, J. Barbosa, A. S. Silva // Foods. – 2020. - Vol. 9 (1). – P. 1-18.

250. Modulation of aflatoxin B1 cytotoxicity and aflatoxin M1 synthesis by natural antioxidants in a bovine mammary epithelial cell line / S. Ghadiri, V. Spalenza, L. Dellafiora, P. Badino, A. Barbarossa, C. Dall'Asta, C. Nebbia, F. Girolami // Toxicol. Vitr. – 2019. – Vol. 57. – P. 174–183.

251. Moreno, P. Determination of eight water and fat-soluble vitamins in multivitamin pharmaceutical formulations by high performance liquid chromatography / P. Moreno, P. Salvado // J. Chromatogr. A. – 2000. – Vol. 870, № 1. – P. 207-215.

252. Mycotoxin contamination of food and feed in china: occurrence, detection techniques, toxicological effects and advances in mitigation technologies / H. Shi, L. L. Prates, Y. Lei, P. Yu, S. Li, Y. Bai // Food Control. – 2018. – Vol. 91. – P. 202-215.

253. Mycotoxins in Poultry Feed and Feed Ingredients from Sub-Saharan Africa and Their Impact on the Production of Broiler and Layer Chickens: A Review / Phillis, E. Ochieng, Marie-Louise Scippo, David C. Kemboi, Siska Croubels, Sheila Okoth, Erastus K. Kang'ethe, Barbara Doupovec, James K. Gathumbi, Johanna F. Lindahl, Gunther Antonissen // Toxins. – 2021. – Vol. 13 (9). – P. 633

254. Newberen, P. Preventive role of vitamin A in colon carcinogenesis in rats / P. Newberen, V. Suphakarn // Cancer. – 1977. – Vol. 40. – P. 2553-2556.

255. Ortiz, D. Identification and quantification of carotenoids and tocochromanols in sorghum grain by high-performance liquid chromatography / D. Ortiz, M.G. Ferruzzi // Methods in Molecular Biology. – 2019. – Vol. 1931. – P.141-151.

256. Pankaj, S. A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food / S. Pankaj, H. Shi, K.M. Keener // Trends Food Sci. Technol. – 2018. – Vol. 71. – P. 73-83.

257. Pate, R. T. Aluminosilicate clay improves production responses and reduces inflammation during an aflatoxin challenge in lactating Holstein cows / R. T. Pate, D. M. Paulus Compart, F. C. Cardoso // J. Dairy Sci. – 2018. – Vol. 101. – P. 11421–11434.

258. Protective and detoxifying effects conferred by dietary selenium and curcumin against AFB1-mediated toxicity in livestock: A review / A. Limaye, R. C. Yu, C. C. Chou, J. R. Liu, K.C. Cheng // Toxins. – 2018. – Vol. 10. – P. 25-42.

259. Rastogi, R. Long term effect of aflatoxin B_1 on lipid peroxidation in rat liver and kindney: effect of picroliv and silymarin / R. Rastogi, A.K. Srivastava, A. K. Rastogi // Phytoterapy Res. – 2001. – Vol. 15. – P. 307-310.

260. Reddy, G. Susceptibility of vitamin A deficient rats to aflatoxin / G. Reddy, T. B. Tilak, D. Krishnamurthi // Food Cosmet. Toxicol. – 1973. – Vol. 11. – P. 467-470.

261. Role of diverse fermentative factors towards microbial community shift in ruminants / T. O. Faniyi, M. J. Adegbeye, M. M. Y. Elghandour, A. B. Pilego, A. Z. M. Salem, T. A. Olaniyi, M. K. Adewumi // J. Appl. Microbiol. – 2019. – Vol. 127. – P. 2-11.

262. Semba, R. D. On the discovery of vitamin A / R. D. Semba // Annals of Nutrition and Metabolism. – 2012. – Vol. 61. – P. 192-198.

263. Simultaneous determination of dietary isoprenoids (carotenoids, chlorophylls and tocopherols) in human faeces by rapid resolution liquid chromatography / S. M. Stinco, A. M. Benitez-Gonzalez, A. J. Melendez-Martinez, D. Hernanz, I. M. Vicario // J. Chromatogr. A. – 2019. – Vol. 1583. – P. 63-72.

264. Simultaneous determination of Vitamin A, 25-hydroxyl vitamin D3 α-tocopherol in small biological fluids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / H. Zhang, L. Quan, P. Pei, Y. Lin, C. Feng, H. Guan, F. Wang, T. Zhang, J. Wu, J. Huo // Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. – 2018. – Vol. 1079. – P. 1-8.

265. Simultaneous determination of water- and fat-soluble vitamins, lycopene and beta-carotene in tomato samples and pharmaceutical formulations: Double injection single run by reverse-phase liquid chromatography with UV detection / M. T. Melfi,

D. Nardiello, N. Cicco, V. Candido, D. Centonze // J. Food Compos. Anal. – 2018. – Vol. 70. – P. 9–17.

266. Simultaneous Separation of Water- and Fat-Soluble Vitamins by Selective Comprehensive HILIC × RPLC (High-Resolution Sampling) and Active Solvent Modulation / S. Baurer, W. Guo, S. Polnick, M. Lammerhofer // Chromatographia. – 2019. – Vol. 82 (1). – P. 167-180.

267. Suitability of stationary phase for LC analysis of biomolecules / S. Saha, S. Walia, K. Sharma, K. Banerjee / Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2020. – Vol. 60 (17). – P. 2856-2873.

268. Tamilmani, T. Performance, immune response and blood biochemical traits of broiler chickens fed graded levels of dietary aflatoxin and ochratoxin combination / T. Tamilmani, A. Biswas, A. Mandal // Indian Journal of Animal Research. – 2021. – Vol. 55 (6). – P. 704-709.

269. Taniwaki, M. H. Aspergillus species and mycotoxins: occurrence and importance in major food commodities / M. H. Taniwaki, J. I. Pitt, N. Magan // Curr. Opin. Food Sci. – 2018. – Vol. 23. – P. 38-43.

270. The efficiency of synthetic polymers to ameliorate the adverse effects of Aflatoxin on plasma biochemistry, immune responses, and hepatic genes expression in ducklings / H. Arak, M. A. Karimi Torshizi, M. Hedayati, S. Rahimi // Toxicon. – 2020. – Vol. 187. – P. 136-143.

271. The Mechanism Underlying the Extreme Sensitivity of Duck to Aflatoxin B1 / K. Wu, M. Liu, H. Wang, S. Ali Rajput, Y. Shan, D. Qi, S. Wang // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2021. – P. 422-430.

272. Ulaiwi, A. H. Effect of levamisole, Vitamin E, and selenium against aflatoxicosis in broilers chicken / A. H. Ulaiwi // Veterinary World. – 2018. – Vol. 11 (2). – P. 248-253.

273. UPLC-MS/MS method for determination of retinol and α-tocopherol in serum using a simple sample pretreatment and UniSpray as ionization technique to reduce matrix effects / N. Peersman, J. V. Elslande, Y. Lepage, S. De Amicis, K. Desmet, P.

Vermeersch // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2020. – Vol. 58 (5). – P. 769-779.

274. Use of antioxidant and probiotic in diets of layers to reduce the risk of aflatoxicosis / F. N. Tsogoeva, R. B. Temiraev, M. N. Mamukaev, R. V. Osikina, I. R. Tletseruk, T.N. Kokov, G.K. Vasiliadi // Asian journal of microbiology, biotechnology and environmental sciences. – 2018. – Vol. 20, № 2. – P. 534-538.

275. Vitamin A deficiency impairs intestinal physical barrier function of fish / W.-D. Jiang, X.-Q. Zhou, L. Zhang, Y. Liu, P. Wu, J. Jiang, S.-Y. Kuang, L. Tang, W.-Tang, Y.-A. Zhang, H.-Q. Shi, L. Feng // Fish Shellfish Immunol. – 2019. – Vol. 87. – P. 546-558.

276. Vitamin A deficiency leads to severe functional disturbance of the intestinal epithelium enzymes associated with diarrhoea and increased bacterial translocation in gnotobiotic rats / H. Kozakova, L. A. Hanson, R. Stepankova, H. Kahu, U. I. Dahlgren, U. Wiedermann // Microbes Infect. – 2003. – Vol. 5, № 5. – P. 405-411.

277. Wang, H. Biochemical basis for the age-related sensitivity of broilers to aflatoxin B1 / H. Wang, W. Li, I. Muhammad, // Toxicology Mechanisms and Methods. – 2018. – Vol. 28 (5). – P. 361-368.

278. Water-soluble substances of wheat: A potential preventer of aflatoxin B1 – induced liver damage in broilers / X. H. Wang, W. Li, X. H. Wang, M. Y. Han, I. Muhammad, X. Y. Zhang, X. Q. Sun, X. X. Cui // Poult. Sci. – 2019. – Vol. 98. – P. 136–149.

279. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: validity of the widely cited ‘FAO estimate’ of 25% / M. Eskola, G. Kos, C.T. Elliott, J. Hajšlová, S. Mayar, R. Krska // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2019. – P. 1-17.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ, РАДИАЦИОННОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

УТВЕРЖДАЮ
Врио директора ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
_____ Ж.Р. Насыбуллина
«28» _____сентября_____2020 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ АФЛАТОКСИНОВ В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Казань 2020

Методические рекомендации по определению афлатоксинов в биологическом материале методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) разработаны сотрудниками ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Казань) – м.н.с. лаб. физико-химического и прецизионного анализа А.З. Мухарлямовой; вед. науч. сотр. лаб. технологии лекарственных средств, докт. биол. наук А.М. Тремасовой; зав. лаб. физико-химического и прецизионного анализа, канд. химич. наук И.М. Фицевым; вед. науч. сотр. лаб. физико-химического и прецизионного анализа, канд. химич. наук А.М. Сайфутдиновым, м.н.с. лаб. физико-химического и прецизионного анализа Э.Р. Рахметовой; вед. инженером лаб. физико-химического и прецизионного анализа А.Г. Мухамметшиной; руков. испытательного центра, канд. химич. наук О.В. Шляминой, глав. науч. сотр. лаб. микотоксинов, докт. вет. наук Э.И. Семёнов.

Рецензенты:

Медетханов Ф.А. - зав. каф. фармакологии, токсикологии и радиобиологии КГАВМ имени Н.Э. Баумана, докт. биол. наук, доцент.

Кадиков И.Р. - зав. лаб. техногенных экотоксикантов ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», докт. биол. наук.

Методические рекомендации предназначены для специалистов государственной ветеринарной службы субъектов Российской Федерации, ветеринарных лабораторий, научных сотрудников, студентов и слушателей курсов повышения квалификации, специализирующихся в области экологии, токсикологии и ветеринарии.

Методические рекомендации по определению афлатоксинов в биологическом материале методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) рассмотрены и одобрены на заседании ученого совета ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (протокол № 6 от 25.09.2020 г.).

Приложение Б

УТВЕРЖДАЮ
Директор КФХ «Рыжов Ю.П.»
_____ Ю.П. Рыжов
«29» 04 2021

АКТ

результатов научно-хозяйственного опыта аспиранта
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
Мухарлямовой Айсылу Завдатовны
в КФХ «Рыжов Ю.П.» Пестречинского района Республики Татарстан

Мы, нижеподписавшиеся директор КФХ «Рыжов Ю.П.» Рыжов Ю.П., зоотехник КФХ «Рыжов Ю.П.» Рыжов А.Ю., заведующая отделением биотехнологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», ведущий научный сотрудник лаборатории технологии лекарственных средств, д.б.н. Тремасова А.М., аспирант лаборатории физико-химического и прецизионного анализа Мухарлямова А.З., составили настоящий акт о том, что в феврале-апреле 2021 г. в условиях КФХ «Рыжов Ю.П.» Пестречинского района Республики Татарстан был проведен научно-хозяйственный опыт на поросятах крупной белой породы живой массой 24-27 кг по изучению эффективности рациона с дополнительным содержанием ретинола ацетата и цеолита при афлатоксикозе на ветеринарно-санитарные показатели мяса.

Были сформированы 6 групп по 10 поросят в каждой. Первая группа служила биологическим контролем и получала основной рацион без афлатоксина. Животные всех опытных групп, кроме шестой, получали в течение 25 сут (с 30-х по 55 сут) основной рацион, контаминированный афлатоксином B_1 в количестве 150 мкг/кг. Вторая группа служила контролем затравки. Третья группа поросят на протяжении всего опыта в течение 55 сут дополнительно получала в рацион ретинола ацетат в количестве 240 МЕ/кг живой массы; четвертая группа – ретинола ацетат в количестве 480 МЕ/кг живой массы; пятая группа - ретинола ацетат в количестве 480 МЕ/кг живой массы и цеолит из расчета 2% от рациона. Длительность опыта составила 55

дней. Шестая группа получала дополнительно к основному рациону ретинола ацетат в количестве 480 МЕ/кг живой массы и цеолит из расчета 2% от рациона. Кровь брали из хвостовых сосудов. Критериями оценки эффективности применения ретинола ацетата и цеолита служили клинические данные, показатели общей живой массы, результаты гематологических и биохимических исследований, неспецифической резистентности и ветеринарно-санитарные показатели.

Анализируя динамику прироста живой массы поросят можно заключить, что наименьшие значения показателя были отмечены во второй группе, которые были ниже контрольных значений на 18,9%. Лучшие показатели прироста при афлатоксикозе и на фоне испытуемых средств установили для пятой группы, которые были выше второй группы на 18,4%. В конце учетного периода отметили, что прирост живой массы поросят шестой группы, выращенных на рационе с добавлением ретинола ацетата и цеолита по отношению к контрольной группе был выше на 12,3%.

При морфологическом исследовании крови поросят установили снижение количества эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина относительно фона во второй группе на 24,8% ($p<0,01$), 18,4% ($p<0,01$) и 15,8% ($p<0,01$); в третьей – на 19,3 ($p<0,01$), 14,1% ($p<0,01$) и 7,7% ($p<0,05$); в четвертой – на 17,2 ($p<0,01$); 12,3% ($p<0,01$) и 5,2%; в пятой – на 6,4 ($p<0,01$) и 7,2% ($p<0,01$) и 2,5%. У поросят шестой группы на 55 сут отметили незначительный рост обсуждаемых показателей. Так, количество эритроцитов к указанному сроку увеличилось относительно фона на 4,8%, лейкоцитов – на 1,9%, гемоглобина – на 7,6%.

Результаты биохимических исследований показали уменьшение содержания общего белка и альбуминов по сравнению с исходными данными во второй группе – на 25,7 ($p<0,01$) и 12,3%; в третьей – на 20,1 ($p<0,01$) и 9,5%; в четвертой – на 18,2 ($p<0,01$) и 7,3% и в пятой – на 7,2 и 3,7%. Количество общего белка в сыворотке крови у поросят шестой группы, по

сравнению с исходными значениями постепенно увеличивалось и к 55 сут составило 5,9%.

Активность ферментов АСТ и АЛТ была выше относительно фона во второй группе на 15,3 (p<0,01) и 41,4% (p<0,01), в третьей – на 14,6 (p<0,01) и 38,5% (p<0,01), в четвертой – на 10,6 (p<0,05) и 28,0% (p<0,01) и в пятой – на 3,3 и 7,2%, соответственно. У поросят шестой группы каких-либо изменений обсуждаемых показателей относительно фона не наблюдали.

Результаты исследования неспецифической резистентности показали снижение фагоцитарной активности и активности лизоцима во второй группе на 9,5 и 17,6% (p<0,05); в третьей группе – на 8,3 и 13,4%; в четвертой – на 7,2 и 10,7%; в пятой группе – на 2,2 и 6,3%, соответственно. В шестой опытной группе с применением ретинола ацетата и цеолита фагоцитарная активность была выше на 6,5% и активность лизоцима – 3,9%.

Содержание афлатоксина В1 в печени и мышечной ткани животных второй группы составило 5,18 и 1,03 мкг/кг; в третьей группе – 4,98 и 1,00 мкг/кг; в четвертой – 4,64 и 0,97 мкг/кг; в пятой – 1,61 и 0,00 мкг/кг.

В результате органолептических исследований установлено, что мясо поросят контрольной, пятой и шестой групп было хорошо обескровленным, поверхностные и глубинные слои без постороннего запаха, цвет мяса от розового до красного, на разрезе консистенция мяса умеренно плотная. При микроскопии мазков-отпечатков с поверхности мышц (первая, четвертая, пятая и шестая группы) обнаружены единичные кокки и палочки; мазков-отпечатков глубоких слоев – микрофлора отсутствовала. В оставшихся группах определили, что поверхность мышц была обсеменена не более 30 кокками и палочковидными бактериями; в глубоких слоях обнаружены единичные кокки и палочковидные бактерии.

Таким образом, применение рациона с дополнительным содержанием ретинола ацетата и цеолита при афлатоксикозе способствовало меньшему снижению прироста массы и относительной стабилизации морфо-биохимических и показателей неспецифичекой резистентности

периферической крови, измененных вследствие влияния афлатоксина на организм поросят и способствует сохранению показателей пищевой ценности мяса. По результатам исследований можно сделать вывод, что введение в рацион поросят ретинола ацетата и цеолита благоприятно влияет на морфо-биохимический статус, повышая защитные механизмы организма, активизирует фагоцитарную активность, что способствует получению качественной продукции.

На основании проведенных исследований исполнителем разработаны предложения по применению ретинола ацетата и цеолита для профилактики афлатоксикоза животных, а также для повышения продуктивных качеств, активизации защитных механизмов и неспецифической резистентности организма.

Зоотехник _____ А.Ю. Рыжов

Зав. отделением биотехнологии
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,
в.н.с. лаб. технологии лекарственных
средств, д.б.н. _____ А.М Тремасова

Аспирант ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» _____ А.З. Мухарлямова

Приложение В

«УТВЕРЖДАЮ»
Врио директора
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
_____Д.Н. Мингалеев
«15» _____ 2023 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научно-исследовательской работы
аспиранта ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
Мухарлямовой Айсылу Завдатовны

Настоящим актом подтверждаем, что методические рекомендации по определению афлатоксинов в биологическом материале методом высокоэффективной жидкостной хроматографии являющиеся материалами диссертации аспиранта Мухарлямовой Айсылу Завдатовны по ветеринарно-санитарному обоснованию применения ретинола ацетата и цеолита при поступлении в организм животных кормов, загрязненных афлатоксином В1 внедрены и используются в научно-исследовательской работе отделения токсикологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»

Заведующий отделением токсикологии
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»,
кандидат биол. наук И.И. Идиятов

Приложение Г

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по образовательной деятельности
ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет»
_____Э.М.Воронцова
«15» мая 2023 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

выдана для представления в совет по защите докторских и кандидатских диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность о том, что научные положения кандидатской диссертации аспиранта ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» Мухарлямовой Айсылу Завдатовны по ветеринарно-санитарному обоснованию применения ретинола ацетата и цеолита при поступлении в организм животных кормов, загрязненных афлатоксином В1 используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедре технологии производства продукции животноводства по дисциплинам «Гигиена животных», «Ветеринарная фармакология», «Кормление животных с основами кормопроизводства».

Директор аграрно-технологического
института, кандидат биол. наук, доцент А.В.Онегов