

УДК: 591.145.2

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ НТ-2 ТОКСИКОЗ КУРЧАТ**

Труфанов О. В., Котик А. М., Труфанова В. О.  
Інститут птахівництва УААН

**Резюме.** Згодовування курчатам протягом 29 днів корму, який містив НТ-2 токсин у концентрації 4—16 мг/кг, призводило до появи некротиченого стоматиту, зменшення живої маси, відносної маси селезінки та бурси, зниження концентрації загального білка у сироватці крові та підвищення відносної маси печінки, серця, нирок і підшлункової залози. При гістологічному дослідженні бурси курчат спостерігали потоншення коркового шару фолікулів і розпушення мозкового і коркового шарів. Ступінь вираженості патологічних змін знаходилась у прямій або оберненій кореляційній залежності від концентрації НТ-2 токсину в кормі. З метою попередження погіршення продуктивності та фізіологічного стану сільськогосподарської птиці слід уникати присутності НТ-2 токсину в кормах.

**Ключові слова:** мікотоксини, НТ-2 токсин, курчата.

**Summary.** Consumption of fodder contained 4, 8 or 16 mg НТ-2 toxin per kg feed by chickens for 29 days led to appearance of mouth lesions, decreasing of body weight, spleen and bursa relative weight as well as blood plasma total protein content and to rise of liver, heart, kidney and pancreas relative weight. Histological investigation of bursa showed thinning of cortical layer of follicles and reduction of closeness of cells in medullar and crust layers. The degree of expression of pathological changes was in direct or reverse correlation with concentration of the НТ-2 toxin in a fodder.

**Key words:** mycotoxins, НТ-2 toxin, chickens.

**Вступ.** НТ-2 токсин належить до трихотеценових мікотоксинів типу А і синтезується грибами роду *Fusarium*, що ростуть на зерні злакових культур [1]. НТ-2 токсин є забруднювачем зерна в Росії [2], Китаї [3], Канаді [4, 5], Австралії [6] та в країнах Європи [7].

НТ-2 токсин є одним з чотирьох трихотеценових мікотоксинів, споживання яких офіційно обмежено в Євросоюзі Науковим комітетом по харчовим продуктам (Scientific Committee on Food, SCF) [8, 9]. НТ-2 токсин за хімічною структурою, механізмом токсичної дії та значенням середньої летальної дози подібний до Т-2 токсину [10]. Вважають, що Т-2 токсин є безпосереднім попередником у синтезі НТ-2 токсину грибами-продуцентами [11]. У тваринному організмі під дією карбоксилестераз Т-2 токсин досить швидко трансформується у НТ-2 токсин, тобто гострий ефект Т-2 токсину значною мірою обумовлений токсичною дією НТ-2 токсину [12, 13]. Результати багатьох

вітчизняних та закордонних досліджень свідчать про те, що Т-2 токсин викликає отруєння тварин. Контамінація комбікормів Т-2 токсином завдає неабиякої шкоди птахівничим господарствам. Але на даний час, як в українських, так і у світових наукових періодичних виданнях відсутні результати досліджень хронічної дії НТ-2 токсину на с.-г. тварин та птицю. У той же час велика увага приділяється іншому трихотеценовому мікотоксину – дезоксиніваленолу – токсичність якого в декілька разів менша за токсичність НТ-2 токсину [14]. Хронічні ефекти ДОН вивчені для багатьох видів тварин; його вміст у зерні та кормах регламентовано Українським законодавством. З огляду на широку розповсюдженість НТ-2 токсину в країнах помірної кліматичної зони, його високу токсичність, виявлену в гострих експериментах на курчатах, щурах, мишах тощо, та на шкоду, якої завдають трихотеценові мікотоксини птахівничій галузі, необхідно дослідити токсичну дію цього мікотоксину на організм птиці.

Метою даного дослідження було вивчення залежності прояву ефектів дії на курчат НТ-2 токсину від його концентрації у кормі.

**Матеріали і методи.** Дослід проводили на курчатах породи род-айленд протягом 28 діб починаючи з добового віку. Курчат утримували у стандартних умовах у клітках, годували та поїли у відповідності з рекомендаціями. Формували чотири групи курчат по 10 голів у кожній: перша група (контрольна) отримувала стандартний раціон, в корм другої, третьої та четвертої груп включали НТ-2 токсин у концентраціях 4, 8 і 16 мг/кг відповідно.

Курчат зважували у віці 1, 11, 22 та 28 діб та розраховували приріст живої ваги. Наприкінці досліду курчат присипляли, декапітували, відбирали проби крові та розтинали; зважували печінку, серце, підшлункову залозу, нирки, бурсу та селезінку та обчислювали їх відносну масу. Зразки внутрішніх органів фіксували у 10% розчині формаліну в карбонатному буфері, заливали у парафінові блоки, робили зрізи, фарбували гематоксилін-еозином та мікроскопували. У плазмі крові визначали концентрацію загального білка та концентрацію загального холестерину.

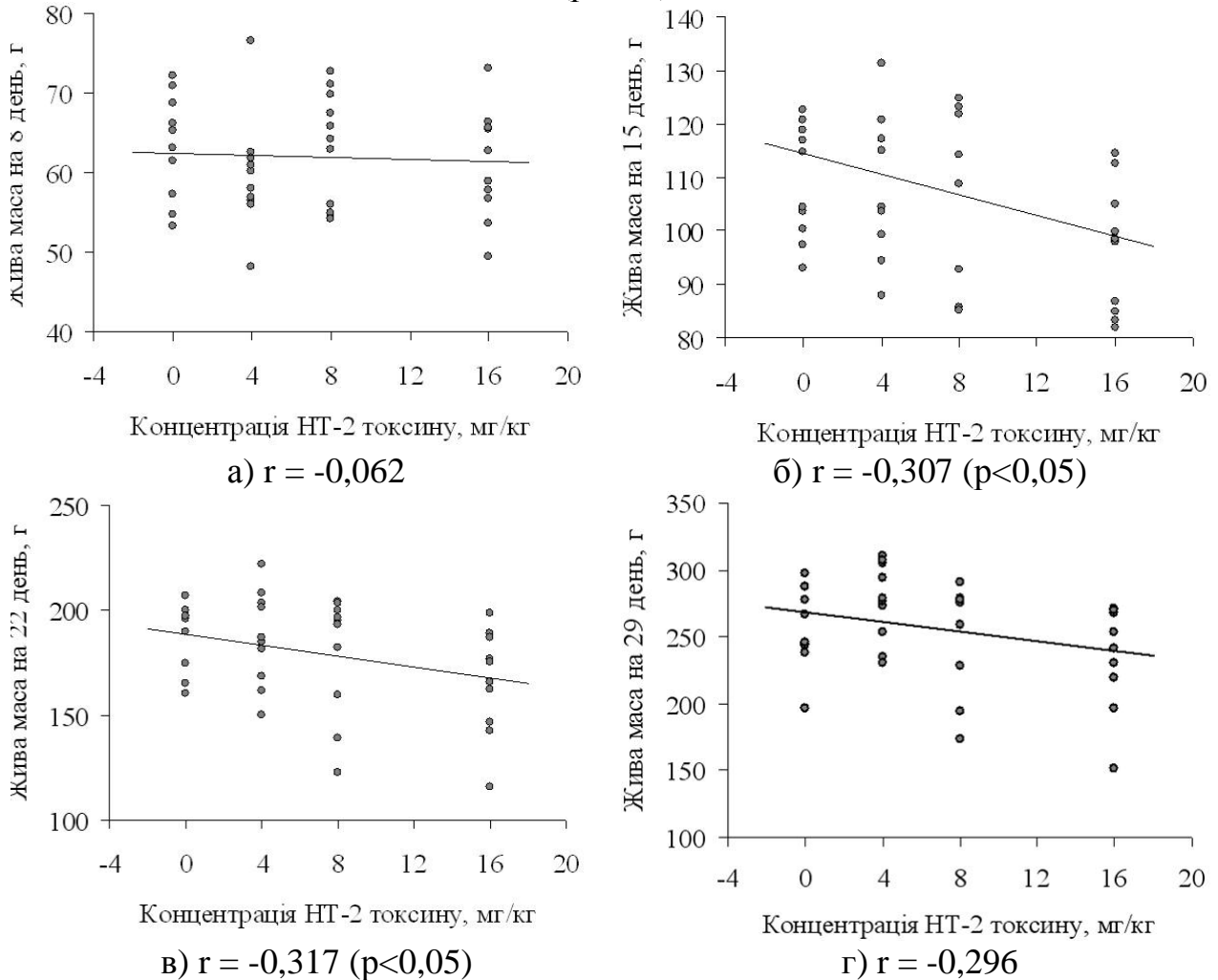
**Результати досліджень.** Значиме зниження живої маси курчат спостерігалось на 15, 22 та 29 добу після включення НТ-2 токсину в корм у концентрації 16 мг/кг (табл. 1). У групі, що отримувала НТ-2 токсин у концентрації 4 мг/кг, відставання в рості відносно контролю не спостерігалось, а на 29 добу досліду жива маса була на 8,5 та 14,2% вище порівняно з групами, корм яких містив 8 та 16 мг/кг НТ-2 токсину відповідно.

**Таблиця 1** - Вплив згодовування корму, контамінованого НТ-2 токсином, на живу масу курчат

Вік, дні	Групи			
	1	2	3	4
1	37,3±2,1	36,4±2,3	39,8±3,3	37,2±5,0
8	63,3±6,6	59,8±7,2 (3)	63,9±6,8 (2)	61,0±7,0
15	109,25±10,7 (4)	116,25±28,6 (4)	109,0±15,9 (4)	96,5±11,9 (1, 2, 3)
22	184,9±18,0 (4)	186,8±22,5 (4)	179,6±29,1 (4)	166,0±25,1 (1, 2, 3)
29	258,6±30,4 (4)	276,4±29,2 (3, 4)	252,9±40,6 (2)	237,0±39,0 (1, 2)

*Примітка.* Цифрами в дужках вказано, відносно яких груп відмінність середнього значення є статистично значимою з  $p < 0,05$ .

Незважаючи на високий показник живої маси у другій групі, з 15 доби дослідження спостерігалась статистично значима від'ємна кореляція між концентрацією НТ-2 токсину та живою масою курчат, що свідчить про обернену залежність між цими показниками (рис. 1).



**Рис. 1.** Кореляція між живою масою курчат та концентрацією НТ-2 токсину в кормі в різні строки після початку дослідження: а) на 8-й день, б) на 15-й день, в) на 22-й день та г) на 29 день.

*Примітка.* r — коефіцієнт кореляції між живою масою курчат і концентрацією НТ-2 токсину.

На рис. 2 зображено некротичні ураження ротової порожнини та язика курчат з контрольної групи та групи, яка отримувала корм з вмістом НТ-2 токсину в концентрації 16 мг/кг. Слід зазначити, що ступінь прояву некротичного стоматиту залежав від вмісту НТ-2 токсину в кормі. При концентрації НТ-2 токсину в кормі 4 мг/кг відмічали потемніння язика та налипання корму на верхньому піднебінні. При концентрації 8 мг/кг — не лише потемніння, а й пересихання та загострення кінчика язика, налипання корму та початкові ознаки розвитку некротичних осередків на верхньому піднебінні. При концентрації НТ-2 токсину 16 мг/кг спостерігали ясно виражені некрози на язичці, слизових оболонках ротової порожнини та піднебінні. Некротичний стоматит є основною діагностичною ознакою хронічної інтоксикації сільськогосподарської птиці Т-2 токсином, що було раніше показано у дослідях на курях, індиках, гусенятах та каченятах [15, 16]. З огляду на отримані нами дані та попередні дослідження дії Т-2 токсину, можна вважати наявність некротичного стоматиту у птиці специфічним ефектом дії трихотеценових мікотоксинів типу А.

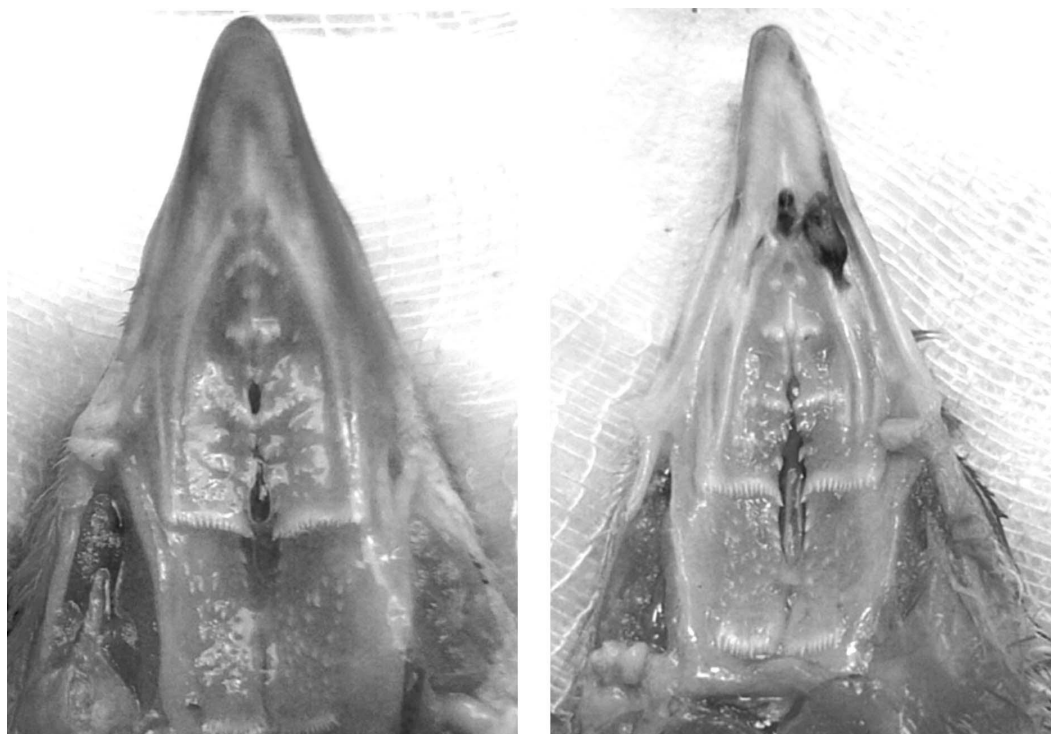


Рис. 2. Типовий вигляд язика та ротової порожнини курчат з першої (зліва) та четвертої (справа) груп.

Залежність відносної маси внутрішніх органів курчат від концентрації НТ-2 токсину в кормі виявилася прямою або оберненою (рис. 3). Спостерігали статистично значиму додатну кореляцію між відносними масами серця, нирок, печінки та підшлункової залози і концентрацією НТ-2 токсину в комбікормі. Кореляція між відносними масами селезінки та бурси і концентрацією НТ-2 токсину була від'ємною.

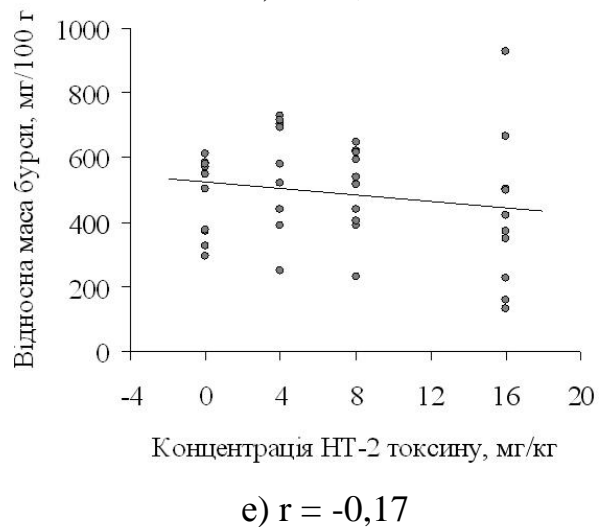
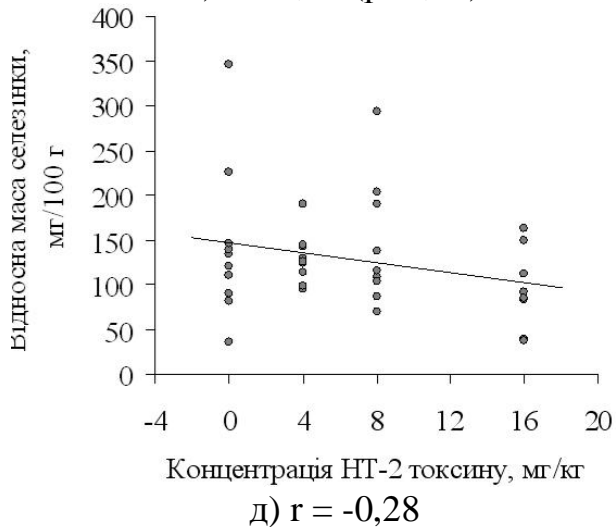
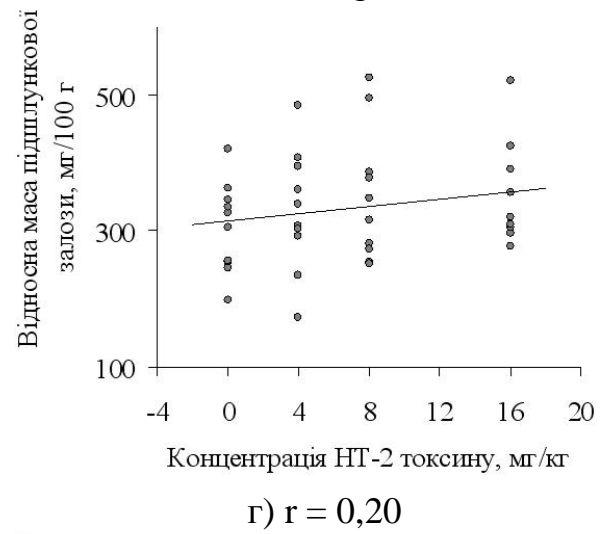
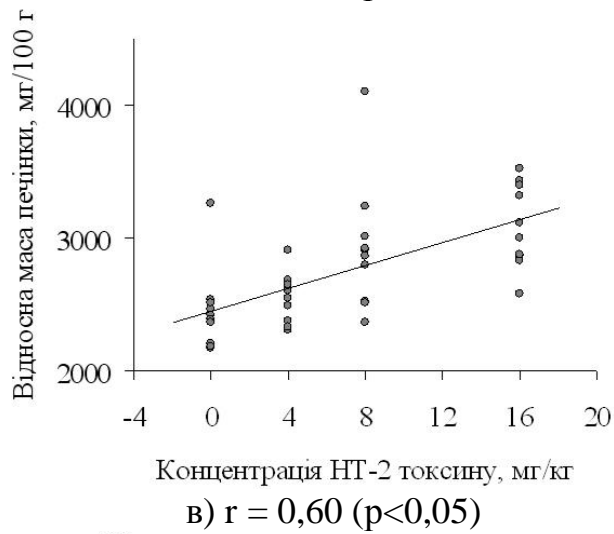
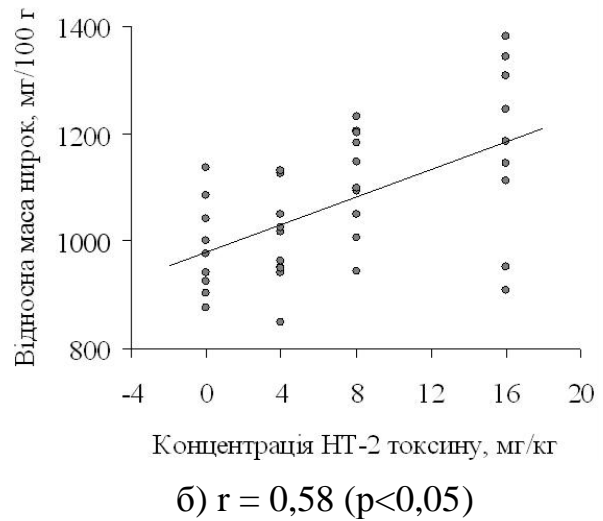
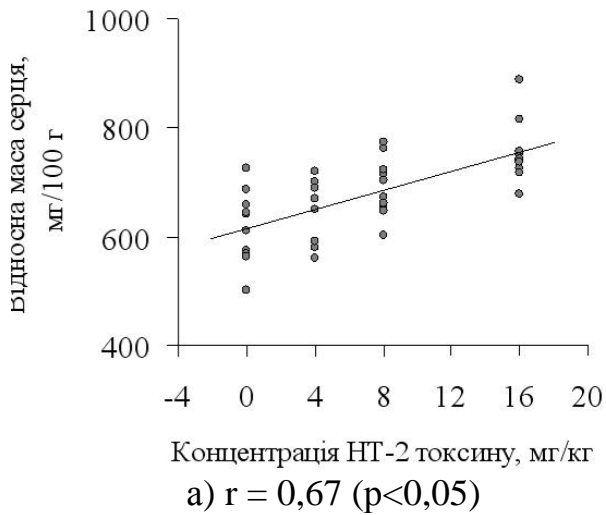


Рис. 3. Кореляція між відносними масами внутрішніх органів курчат та концентрацією НТ-2 токсину в комбікормі: а) серце, б) нирки, в) печінка, г) підшлункова залоза, д) селезінка, е) бурса.

*Примітка.*  $r$  — коефіцієнт кореляції між відносними масами органів курчат і концентрацією НТ-2 токсину.

Із табл. 2 видно, що коефіцієнти кореляції між відносними масами серця, печінки, підшлункової залози та нирок мали додатне значення, тоді як коефіцієнти кореляції цих показників з живою масою тіла курчат і відносними

масами селезінки та бурси були від'ємні. Коефіцієнти кореляції відносних мас селезінки, бурси і підшлункової залози з відносними масами інших органів і живою масою курчат не були статистично значимими.

**Таблиця 2** - Значення коефіцієнтів кореляції між живою масою на 29 добу та відносними масами внутрішніх органів курчат, що отримували корм з НТ-2 токсином у різних концентраціях.

Показники	Серце	Печінка	Підшлункова залоза	Нирки	Бурса	Селезінка	Жива маса
Жива маса	-0,3*	-0,45*	-0,17	-0,31*	0,24	0	1
Селезінка	-0,18	0,26	0,14	-0,05	0,05	1	
Бурса	-0,1	-0,21	-0,02	-0,12	1		
Нирки	0,38*	0,65*	0,18	1			
Підшлункова залоза	0,2	0,23	1				
Печінка	0,51*	1					
Серце	1						

*Примітка.* Зіркою (\*) вказано статистично значимі ( $p < 0,05$ ) значення коефіцієнтів кореляції.

Відносна маса внутрішніх органів, функціонування яких є необхідним для підтримання життєдіяльності організму, збільшувалася у прямій залежності від концентрації НТ-2 токсину у кормі (табл. 3). Підвищення відносної маси печінки було відмічено раніше в мишей при введенні НТ-2 токсину у дозі 2,55 мг/кг маси тіла ( $1/5 LD_{50}$ ) протягом 7 днів [17]. Механізмом, що лежить в основі цього явища, є, на нашу думку, компенсаторна гіпертрофія. Відомо, що НТ-2 токсину, як і іншим ТТМТ, властива здатність пригнічувати біосинтез білка. Це веде за собою зниження активності багатьох ферментів. Наприклад, у печінці щурів внаслідок введення протягом 28 днів культури *F. sporotrichiella* на пшоні, яка містила 150 мг/кг НТ-2 токсину та інші трихотецени, знижувалася активність  $\beta$ -галактозидази,  $\beta$ -N-ацетилглюкозамінідази, глюкозо-6-фосфатази та мітохондріальної сукцинатдегідрогенази [18]. Отже, компенсація недостатньої функціональної активності внутрішніх органів може відбуватися за рахунок збільшення їх маси.

**Таблиця 3** - Вплив згодовування корму, контамінованого НТ-2 токсином, на відносну масу органів (мг/100 г)

Органи	Групи			
	1	2	3	4
Серце	617,0±21,0 (3, 4)	642,0±20,0 (4)	690,3±17,1 (1)	754,4±18,5 (1, 2)
Печінка	2450,4±99,3 (3, 4)	2537,0±58,0 (4)	2923,9±155,0 (1)	3092,7±99,4 (1, 2)
Підшлункова залоза	304,7±20,9 (3, 4)	330,0±28,3	350,6±30,6 (1)	349,9±24,1 (1)
Нирки	988,5±25,9 (3, 4)	1000,3±27,6 (3, 4)	1116,5±30,0 (1, 2)	1176,3±49,3 (1, 2)
Селезінка	142,6±27,4 (4)	128,8±8,5 (4)	142,1±21,5 (4)	94,1±12,7 (1, 2, 3)
Бурса	476,1±37,9 (2)	554,2±51,0 (1, 4)	498,8±41,8	424,7±76,4 (2)

*Примітка.* Цифрами в дужках вказано, відносно яких груп відмінність середнього значення є статистично значимою з  $p < 0,05$ .

Відносна маса органів кровотворення — селезінки та бурси — мала тенденцію до зниження при збільшенні концентрації НТ-2 токсину, про що свідчить від'ємне значення коефіцієнтів кореляції (таблиця 3.4.1.2). Маса селезінки курчат, що отримували комбікорм з вмістом НТ-2 токсину 16 мг/кг, була нижчою, ніж у курчат груп 1—3, на 52, 37 та 51%, відповідно. В згаданому вище досліді на щурах [18], було виявлено істотне зниження вмісту білка та підвищення активності гідролітичних ферментів у селезінці внаслідок дії НТ-2 токсину та інших трихотеценових мікотоксинів.

Характер залежності відносної маси бурси від концентрації НТ-2 токсину був аналогічний характеру залежності між концентрацією НТ-2 токсину та живою масою курчат. Найбільшою середня відносна маса бурси була в групі, в корм якої вносили 4 мг/кг НТ-2 токсину, але з підвищенням концентрації НТ-2 токсину до 8 та 16 мг/кг відносна маса бурси зменшувалася. На фотографіях зрізів бурси видно, що зменшення відносної маси бурси є наслідком атрофії фолікулів (рис. 4). Для фолікулів бурси курчат контрольної групи було характерне щільне розташування клітин коркового та мозкового шарів; товщина коркового та мозкового шарів була приблизно однаковою. При наявності у комбікормі НТ-2 токсину в концентрації 4 мг/кг відбувалося потоншення коркового шару фолікулів. При концентрації НТ-2 токсину 8 мг/кг окрім цього спостерігалось розпушування мозкового шару фолікулів бурси. Внесення НТ-2 токсину у концентрації 16 мг/кг призводило до розпушування і мозкового, і коркового шарів. Крім того, при концентраціях НТ-2 токсину в кормі для курчат 8 та 16 мг/кг шар сполучної тканини між фолікулами був ширшим, що може бути наслідком зменшення діаметру фолікулів.

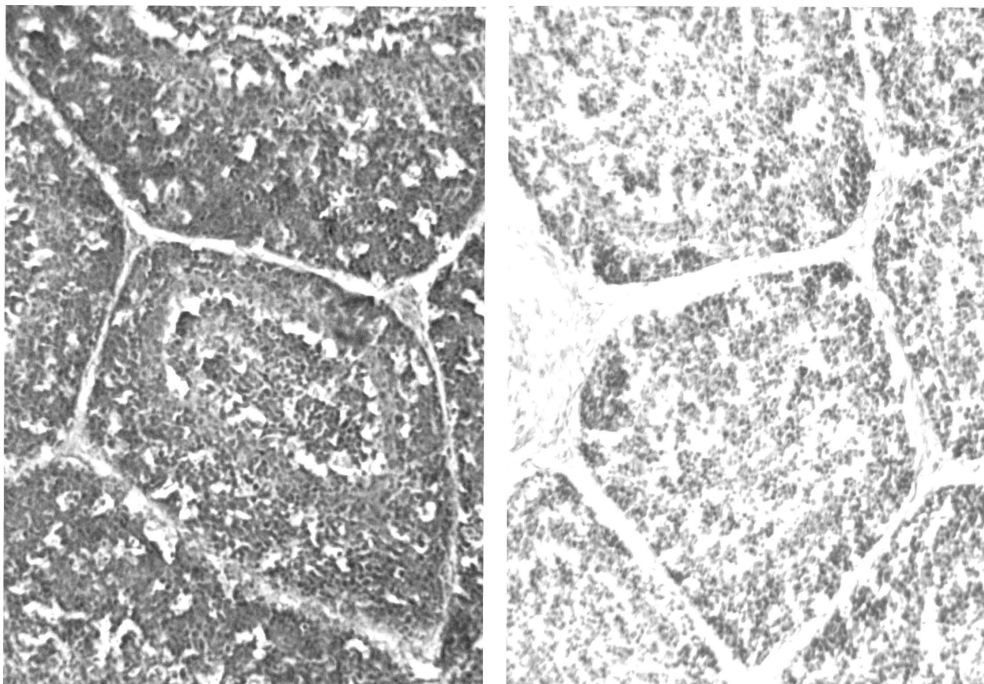


Рис. 4. Зріз бурси курчати, яке отримувало стандартний комбікорм (зліва) та атрофія бурси у курчати, яке отримувало корм з вмістом НТ-2 токсину 16 мг/кг (справа).

Порівняння біохімічних показників плазми крові курчат різних груп приведено в табл. 4. У курчат, що отримували з кормом 4, 8 та 16 мг/кг НТ-2 токсину, спостерігалось зниження концентрації загального білка у плазмі крові у порівнянні до контрольної групи на 32, 35 та 25% відповідно. Статистично значимих відмінностей у вмісті загального холестерину між групами не виявили.

**Таблиця 4** - Біохімічні показники плазми крові курчат, що отримували НТ-2 токсин у різних кількостях

Показник	Група			
	1	2	3	4
Загальний білок, г/л	53,0±4,87 (2, 3, 4)	36,2±5,88 (1)	34,6±5,44 (1)	39,6±2,91 (1)
Загальний холестерин, мг%	138,2±8,04	145,7±19,15	130,7±11,92	133,7±12,82

Відомо, що коливання концентрації загального білка у плазмі крові можуть бути викликані змінами трьох параметрів: швидкості біосинтезу білків, швидкості елімінації та об'єму розподілення. Швидке зменшення концентрації білка найчастіше є наслідком збільшення об'єму плазми, тоді як повільне свідчить про зниження інтенсивності синтезу або підвищення катаболізму та екскреції. Зниження вмісту загального білка приблизно з 60 до 45 г/л спостерігали у курей-несучок при згодовуванні протягом 3-х тижнів корму, що містив Т-2 токсин у концентрації 20 мг/кг [19]. При нижчих концентраціях — 10 мг/кг у кормі для індичат та від 0,2 до 10 мг/кг у кормі для курчат статистично значимих змін цього показнику не спостерігали [20].

### Висновки

1. Згодовування курчатам корму з НТ-2 токсином у концентрації 4—16 мг/кг призводило до появи некротичного стоматиту, зменшення живої маси, відносних мас селезінки та бурси, зниження концентрації загального білка у плазмі крові та підвищення відносної маси печінки, серця, нирок і підшлункової залози.
2. Атрофія бурси курчат під впливом НТ-2 токсину проявлялася, окрім зниження відносної маси, у потоншенні коркового шару фолікулів та розпушенні мозкового та коркового шарів.
3. Ступінь вираження патологічних змін корелювала з концентрацією НТ-2 токсину в кормі.
4. З метою попередження погіршення продуктивності та фізіологічного стану с.-г. птиці слід уникати наявності НТ-2 токсину в кормах та застосовувати засоби для зниження його негативної дії.

### Список літератури

1. Toxigenic *Fusarium spp.* as determinants of trichothecene mycotoxins in settled grain dust / A. S. Halstensen, K. C. Nordby, S. S. Klemsdal [et al.] // J. Occup. Environ. Hyg. — 2006. — Vol. 3, № 12. — P. 651—659.



2. Сравнительная характеристика методов определения в кормах Т-2 токсина / М. Я. Трemasов, А. И. Сергейчев, П. К. Сметов [и др.] // Ветеринария. — 1997. — № 10. — С. 45—47.

3. Chu F. S. Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer / F. S. Chu, G. Y. Li // Appl. Environ. Microbiol. — 1994. — Vol. 60, № 3. — P. 847—852.

4. Mills J. T. Mycotoxins and toxigenic fungi on cereal grains in western Canada / J. T. Mills // Can. J. Physiol. Pharmacol. — 1990. — Vol. 68, № 7. — P. 982—986.

5. Levels of five mycotoxins in grains harvested in Atlantic Canada as measured by high performance liquid chromatography / G. W. Stratton, A. R. Robinson, H. C. Smith [et al.] // Arch. Environ. Contam. Toxicol. — 1993. — Vol. 24, № 3. — P. 399—409.

6. Production of trichothecene mycotoxins by Australian *Fusarium* species / A. McLachlan, K. J. Shaw, A. D. Hocking [et al.] // Food. Addit. Contam. — 1992. — Vol. 9, № 6. — P. 631—638.

7. Schothorst R. C. Report from SCOOP task 3.2.10 “Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states” Subtask: trichothecenes / R. C. Schothorst, H. P. van Egmond // Toxicology Letters. — 2004. — Vol. 153. — P. 133—143.

8. Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol [Электронный ресурс] / SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final. — Scientific Committee on Food. — 2003. Режим доступа:

[http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out123\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf)

9. Creppy E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe / E. E. Creppy // Toxicol. Lett. — 2002. — Vol. 127, № 1—3. — P. 19—28.

10. Comparison of toxicity induced by HT-2 toxin on human and rat granulomonocytic progenitors with an in vitro model / S. Lautraite, D. Parent-Massin, B. Rio // Hum. Exp. Toxicol. — 1996. — Vol. 15, № 3. — P. 208—213.

11. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides* / U Thrane, A Adler, P. E. Clasen // Int. J. Food Microbiol. — 2004. — Vol. 95, № 3. — P. 257—266.

12. Sintov A. Pharmacokinetics and protein binding of trichothecene mycotoxins, T-2 toxin and HT-2 toxin, in dogs / A. Sintov, M. Bialer, B. Yagen // Toxicol. — 1988. — Vol. 26, № 2. — P. 153—160.

13. Ueno Y. Analysis of T-2 toxin metabolites in tissues and excreta of rats / Y. Ueno, Y. Takai, Y. Baba // J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. — 1990 — Vol. 10, № 1—2. — P. 31—40.

14. Rio B. *In vitro* toxicity of trichothecenes on human erythroblastic progenitors / B. Rio, S. Lautraite, D. Parent-Massin // Hum. Exp. Toxicol. — 1997. — Vol. 16. — P. 673—679.

15. Котик А. Н. Случаи микотоксикозов сельскохозяйственных птиц в Украине в 1974—96 гг. / А. Н. Котик, В. А. Труфанова // Птахівництво : Міжвід. темат. наук. зб. — 1997. — Вип. 47. — С. 92—100.

16. Труфанова В. А. Действие фузариотоксина Т-2 на сельскохозяйственную птицу и биоавтографический метод его определения : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.07 «Микробиология» / В. А. Труфанова. — Москва, 1984. — 24 с.

17. Левицкая А. Б. Изучение токсических свойств некоторых трихотеценовых микотоксинов с целью их гигиенического нормирования: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.00.07 «Гигиена» / А. Б. Левицкая. — Москва, 1985. — 16 с.

18. Авреньева Л. И. Влияние микотоксинов *Fusarium* на активность некоторых органеллоспецифических ферментов различных органов и тканей крыс : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : спец. 03.00.04 «Биохимия» / Л. И. Авреньева. — Москва, 1985. — 22 с.

19. Egg production, shell thickness, and other physiological parameters of laying hens affected by T-2 toxin / R. D. Wyatt, J. A. Doerr, P. B. Hamilton [et al.] // *Appl. Microbiol.* — 1975. — Vol. 29, № 5. — P. 641—645.

20. Comparison of effects of dietary T-2 toxin on growth immunogenic organs, antibody formation, and pathologic changes in turkeys and chickens / J. L. Richard, S. J. Cysewski, A. C. Pier [et al.] // *Am. J. Vet. Res.* — 1978. — Vol. 39, № 10. — P. 1674—1679.