

## ФАРМАКОТЕРАПИЯ И ФАРМАКОПРОФИЛАКТИКА БОЛЕЗНЕЙ МОЛОДНЯКА ЖИВОТНЫХ

УДК 636.52/.58:619:616-099:591.1

### РАЗРАБОТКА НОВОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ МИКОТОКСИКОЗОВ

\*Вертипрахов В.Г., \*\*Грозина А.А., \*\*\*Кислова И.В., \*\*\*Овчинникова Н.В.

\*ГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К. А. Тимирязева», г. Москва, Российская Федерация

\*\*ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН, г. Сергиев Посад, Российская Федерация

\*\*\*НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина, г. Москва, Российская Федерация

*Для нормализации пищеварения при микотоксикозах, вызываемых Т-2 токсином, наиболее эффективен препарат, содержащий наряду с сорбентом фермент протеазу. В этом случае наблюдали повышение активности протеолитических ферментов, щелочной фосфатазы и содержание общего фосфора в дуоденальном содержимом. **Ключевые слова:** цыплята-бройлеры, дуоденальные ферменты, микотоксины, сорбент, протеаза.*

### DEVELOPMENT OF A NEW DRUG FOR THE PREVENTION OF MYCOTOXICOSIS

\*Vertiprakhov V.G., \*\*Grozina A.A., \*\*\*Kislova I.V., \*\*\*Ovchinnikova N.V.

\*Russian State Agrarian University - MSKHA named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russian Federation

\*\*Russian Research and Technological Institute of Poultry Husbandry RAS, Sergiev Posad, Russian Federation

\*\*\*P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow, Russian Federation

*For normalization of digestion in mycotoxicoses caused by T-2 toxin, the preparation containing protease enzyme along with sorbent is most effective. In this case, an increase in the activity of proteolytic enzymes, alkaline phosphatase and the content of total phosphorus in the duodenal contents were observed. **Keywords:** broiler chickens, duodenal enzymes, mycotoxins, sorbent, protease.*

**Введение.** Микотоксины часто называют «молчаливыми убийцами», поскольку они трудно диагностируются в организме животных и обладают канцерогенными, мутагенными, тератогенными, эмбриотоксическими, аллергенными и иммуносупрессивными свойствами, подавляют клеточный и гуморальный иммунитет [1]. В кормах птицы часто встречаются Т-2 токсин и НТ-2 токсин, которые относятся к наиболее опасным трихотеценовым микотоксинам и вызывают гастроэнтериты, некроз кожи и слизистой оболочки ротовой полости, нарушение деятельности центральной нервной системы. Содержание Т-2 токсина в комбикормах для птиц регламентировано (ПДК = 100 мкг/кг, СанПиН 2.3.2.1078-

01). Поражению органов под действием микотоксинов предшествуют функциональные нарушения, которые влияют на гематологический статус и ферментативные функции в пищеварительном канале. При исследовании этих функций наиболее точные результаты дают эксперименты *in vivo* на фистульных животных. Поэтому при разработке нового препарата против микотоксикозов, мы использовали метод получения химуса 12-перстной кишки у цыплят-бройлеров, как наиболее информативный при определении влияния препаратов на ферментативную активность. Целью работы было определение эффективности действия на основные показатели дуоденального химуса и крови у бройлеров сорбента и комплексного препарата, содержащего наряду с сорбентом протеазу.

**Материалы и методы исследований.** Физиологические опыты проводили в 2021 году на цыплятах-бройлерах (*Gallus gallus L.*) кросса Смена 8 в виварии ФНЦ «ВНИТИП» РАН в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 1986) [2]. Кормление и содержание птицы осуществлялось в соответствии с рекомендациями по выращиванию данного кросса [3].

Хирургические операции по вживлению фистул в 12-перстную кишку были выполнены на 25 птицах в 20-25-суточном возрасте, канюлю вживляли напротив места впадения в кишечник панкреатических и желчных протоков по авторскому методу (4). Из клинически здоровой птицы сформировали пять групп (по 5 гол. в каждой) по принципу аналогов: I группу (контроль) содержали на основном рационе (ОР) без добавки микотоксинов, II группа получала ОР + Т-2 токсин (0,1 мг/кг) + сорбент Заслон 2+ (2 г/кг корма), III - ОР + Т-2 токсин (0,4 мг/кг) + Заслон 2+ (2 г/кг корма), IV - ОР+ Т-2 токсин (0,1 мг/кг) + Заслон 2+ (2 г/кг корма) + фермент Axtra Pro (0,1 г/кг корма), V - ОР + Т-2 токсин (0,4 мг/кг) + Заслон 2+ (2 г/кг корма) + Axtra Pro (0,1 г/кг корма). Кормовая добавка Заслон 2+ (ООО «БИОТРОФ», Россия) состояла из сорбирующего материала диатомита, бактерий *Bacillus sp.*, смеси натуральных эфирных масел эвкалипта, чабреца, чеснока и лимона. Протеолитическая активность ферментного препарата Axtra Pro («DuPont de Nemours, Inc.», США) составляла  $897,0 \pm 47,5$  мг/мл/мин. Корм контаминировали Т-2 токсином до 1ПДК (II и IV группы) и 4ПДК (III и V группы) механическим способом с соблюдением требований безопасности персонала. Применяли стандартный Т-2 токсин (порошок с массовой долей основного вещества  $99,7 \pm 0,3$  %; «Romer Labs», Австрия, LOT № S17052T). Свежий корм давали птице ежедневно, доступ к воде не ограничивали.

Подготовительный период длился с 26- до 33-суточного возраста птицы, период опыта продолжался 14 сут (с 34- до 48-суточного возраста). Пробы химуса (1,0-2,0 мл) собирали ежесуточно в период опыта от каждой птицы в утренние часы, помещали в холодильную камеру при  $-20$  °С, образцы (по 5 г) высушивали в лиофильной сушилке серии TFD («ilShinBioBase Co., Ltd.», Южная Корея) в течение 34 ч при  $-77,8$  °С и давлении 5 mTorr (удаление 97 % влаги из субстрата с сохранением биологически активных веществ). В дуоденальном химусе и помете определяли активности пищеварительных ферментов, щелочной фосфатазы, содержание минеральных веществ.

Амилазу в дуоденальном содержимом и помете определяли по Smith-Roy в модификации для высокой активности фермента [5], активность протеаз — по гидролизу казеина, очищенного по Гаммерстену (калориметрический контроль при

$\lambda = 450$  нм), липазу, щелочную фосфатазу, содержание кальция и фосфора — на полуавтоматическом биохимическом анализаторе SINNOWA BS-3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», КНР) с набором ветеринарных диагностических реагентов («ДИАКОН-ВЕТ», Россия). Биохимические исследования крови выполняли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Sinnowa BS-3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», КНР) с набором для определения общего белка, щелочной фосфатазы, глюкозы, холестерина, триглицеридов, липазы («ДИАКОН-ВЕТ», Россия). Активность трипсина в плазме крови измеряли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS-3000P кинетическим методом (6) с использованием в качестве субстрата Na-бензоил-DL-аргинин-п-нитроанилида (BAPNA, «Acros Organics», Швейцария). Морфологические исследования крови выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе для ветеринарии DF-50 («Dymind Biotech», КНР) с применением фирменных реагентов.

Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение JMP Trial 14.1.0 ([https://www.jmp.com/en\\_us/software/data-analysis-software.html](https://www.jmp.com/en_us/software/data-analysis-software.html)). Результаты представлены в виде средних арифметических значений ( $M$ ) и среднеквадратичных отклонений ( $\pm SD$ ). Достоверность различий устанавливали по  $t$ -критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда для реализации научного проекта 20-76-10003 «Изучение действия Т-2 и НТ-2 токсинов на пищеварение у птиц, разработка методов диагностики и создание нового комплексного препарата для профилактики микотоксикозов».

**Результаты исследований.** Препараты для нейтрализации микотоксинов оказывали влияние на ферментативную активность в дуоденальном содержимом (таблица 1). Амилолитическая активность увеличивалась ( $p < 0,05$ ) во II опытной группе на 34,5 %, в III - на 40,9 %, в IV - на 44,1 %, в V - на 55,6 % по сравнению с контролем. Протеолитическая активность статистически значимо ( $p < 0,05$ ) повышалась в IV и V группах соответственно на 38,5 и 22,9 %. Активность трипсина возрастала лишь в IV опытной группе на 22,8 % ( $p < 0,05$ ). Липолитическая активность дуоденального содержимого имела тенденцию к увеличению во всех опытных группах, но достоверно ( $p < 0,05$ ) показатель изменяется только в V группе на 19,3 % по сравнению с I группой.

**Таблица 1 - Активность дуоденальных ферментов при использовании препаратов для нейтрализации токсина Т-2 (абсолютно сухое вещество,  $M \pm SD$ ,  $n=5$ )**

Показатель	Группы				
	I контрольная	II опытная	III опытная	IV опытная	V опытная
Амилаза, мг.мл/мин	2722 $\pm 278,4$	3662 $\pm 244,9^*$	3837 $\pm 234,7^*$	3922 $\pm 131,0^*$	4237 $\pm 240,3^*$
Протеазы, мг.мл/мин	161 $\pm 15,3$	193 $\pm 6,4$	203 $\pm 19,2$	223 $\pm 2,9^*$	198 $\pm 2,7^*$
Трипсин, ед/л	6770 $\pm 339,2$	7371 $\pm 201,4$	7609 $\pm 408,5$	8313 $\pm 206,5^*$	7202 $\pm 215,4$
Липаза, ед/л	17482	18784	18289	21941	20863

	±1225,2	±1731	±911,2	±2172,7	±312,4*
Щелочная фосфатаза, ед/л	130085 ±6466,6	148260 ±7699,4	159106 ±6269,9*	216656 ±14191,5*	219429 ±8676,0*
Кальций, ммоль/л	243±5,5	258±14,4	248±9,9	245±3,5	224±4,5*
Фосфор, ммоль/л	161±29,5	172±22,6	180±20,3	261±6,5*	226±12,6

Примечание: \* - разница с контрольной группой достоверна, при  $p < 0,05$ .

В опытных группах, получавших Т-2 токсин, активность щелочной фосфатазы значительно возрастала: во II группе - на 13,9 %, в III - на 22,3 % ( $p < 0,05$ ), в IV - на 66,5 % ( $p < 0,05$ ), в V - на 68,7 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Это указывает на дегенеративные процессы в ткани кишечника, направленные на адаптацию к действию токсина. При этом количество общего фосфора в дуоденальном содержимом увеличивалось в IV опытной группе на 62,1% ( $p < 0,05$ ). Следовательно, изученные препараты обладают способностью нейтрализовать негативное действие микотоксина на ферментативные процессы кишечника.

Сравнительный анализ действия разных препаратов указывает на то, что при экспериментальном Т-2 токсикозе цыплят-бройлеров кросса Смена 8 кормовая добавка Заслон 2+ (сорбент) в сочетании с ферментным препаратом Ахтра Про, содержащим протеазу, оказывает более эффективное действие, чем базовый препарат (сорбент). Так, при дозе токсина 0,1 мг/кг корма активность протеаз в дуоденальном содержимом при использовании комплексного препарата увеличивалась на 15,5 % ( $p < 0,05$ ), трипсина - на 12,8 % ( $p < 0,05$ ), щелочной фосфатазы - на 46,1 % ( $p < 0,05$ ), содержание общего фосфора - на 25,6 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с одним сорбентом.

**Заключение.** Использование комплексного препарата, содержащего наряду с сорбентом протеазу, оказывает более эффективное действие на нормализацию кишечного пищеварения у кур при экспериментальном микотоксикозе, вызванном Т-2 токсином. В этом случае повышается протеолитический спектр активности ферментов в дуоденальном содержимом, уровень щелочной фосфатазы и содержание общего фосфора, что положительно будет влиять на пищеварение и метаболизм.

**Литература.** 1. Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты) / А. В. Иванов, В. И. Фисинин, М. Я. Трemasов, К. Х. Папуниди. - Москва, 2010. 2. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS № 123) (Strasbourg, 18.03.1986). - Режим доступа : <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list?module=treaty-detail&treatynum=123>. - Дата обращения : 20.08.2021. 3. Руководство по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы / Под ред. В.И. Фисинина. - Сергеев Посад, 2014. - С. 3-4. 4. Кишечное пищеварение и биохимия крови у кур-несушек (*Gallus gallus L.*) при введении в рационы микродо-бавки хрома / В. И. Фисинин [и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2019. - № 54 (4). – С. 810-819. 5. Батоев, Ц. Ж. Физиология пищеварения птиц / Ц. Ж. Батоев. - Улан-Удэ, 2001. 6. Вертипрахов, В. Г. Оценка состояния поджелудочной железы методом определения активности трипсина в крови птицы / В. Г. Вертипрахов, А. А. Грозина // Ветеринария. – 2018. - № 12. – С. 51-54.