

**Н. А. АНТОНОВ, Г. Я. БЕЛКИН, А. З. ИОФФЕ,
А. Я. ЛУКИН, И. Н. СИМОНОВ**

**ОПЫТЫ ПО СКАРМЛИВАНИЮ ЛОШАДЯМ КУЛЬТУР
ТОКСИЧЕСКИХ ГРИБКОВ *FUSARIUM ROAE* (PERS)
и *CLADOSPORIUM EPIPHYLLUM* (PERS) MART**

*(Чкаловский сельскохозяйственный институт им. А. А. Андреева,
Чкаловская ветеринарно-опытная станция и лаборатория
Чкаловского института эпидемиологии и микробиологии
имени И. И. Мечникова)*

Ранее проведенные нами (Лукин, Антонов, Симонов, Берлин) опыты по скармливанию сельскохозяйственным животным перезимовавших в поле под снегом зернозлаков и продуктов их переработки не позволили нам придти к окончательному выводу о безусловной токсичности указанных зернозлаков для скота. Перезимовавшие под снегом в поле зернозлаки, пораженные грибами, иногда являются токсическими для людей, вызывая алиментарнотоксическую алейкию; вызвать же такими зернозлаками токсикоз у лошадей и свиней нам не удалось.

Мы не считаем, что зернозлаки, пораженные грибами, абсолютно безвредны для лошадей и свиней, однако результаты наших работ предостерегают от переоценки токсичности большинства грибов, выделенных с перезимовавших зернозлаков, для некоторых видов животных, а следовательно, и от полного запрещения скармливания пораженных зернозлаков лошадям и свиньям.

Р. А. Фок, изучая перезимовавшие злаки Чкаловской области за зимне-весенний период 1946 г., установила токсичность их и не отмечала существенной разницы между токсичностью зерна и вегетативных частей растений.

Из анализа литературного материала можно установить, что фузариозы имеют повсеместное распространение; при этом поражается не только зерно, но и вегетативные части растений, которые составляют основную массу кормовых веществ для сельскохозяйственных животных, в частности для лошадей. Мы использовали агаровые культуры *Fusarium roae* и *Cladosporium epiphyllum* двух серий в порошкообразном состоянии.

Работа производилась комплексно: микологическую часть проводил А. З. Иоффе, клинические наблюдения — Н. А. Антонов и М. К. Шмырева, гематологическую — И. Н. Симонов, токсикологическую часть — А. Я. Лукин и М. Г. Берлин, патологоанатомическую — Г. Я. Белкин.

Микологическая часть

Из выделенных перезимовавших зернозлаков Чкаловской области больше 1000 штаммов различных грибов нами были взяты для изучения штаммы грибов *Fusarium poae* и *Cladosporium epiphyllum*. Эти два грибка, по данным Иоффе, оказались наиболее токсичными из всех 180 видов токсических грибов, выделенных по области из перезимовавших в поле зернозлаков. Они вызывали воспалительную реакцию на коже кролика, с отеком, геморагией и некрозом. Эти грибки выделялись исключительно из резко токсических образцов зернозлаков, вследствие чего можно было предположить, что они играют главную роль в образовании яда.

Выращивание культур грибов производилось по следующей методике: первая серия грибка фузариума и кладоспориума была засеяна 23 марта 1946 г. на сахаро-глюкозо-пептонный агар с маточной культуры на плотной среде. Штаммы были предварительно пересеяны на вышеуказанные агаровые среды и затем, после получения обильного роста на протяжении 30 дней, при тех же условиях, при которых находились исходные штаммы, производился массовый посев петлей. После посева культуры в течение 10 дней находились при комнатной температуре $+12-14^{\circ}$, 4 апреля 1946 г. были помещены в подвал на ледник при температуре от $+1$ до -1° , где оставались до 6 мая 1946 года. Затем культуры проверялись на стерильность и подвергались микологическому обследованию. Грибок фузариум дал слабую розовую окраску на питательной среде, а кладоспориум образовал темнокоричневый, черный рост, с многочисленными крупными и сплошными колониями.

При микологическом исследовании чистой культуры фузариума обнаружено много молодых, преимущественно грушеобразных, частично круглых микроконидий и немного макроконидий. Грибница была обильная, в виде хорошо развитых воздушных мицелий, с резко выраженными жировыми каплями. Встречался также молодой мицелий, более нежный, с незначительным количеством мелких жировых капель, и мицелий, в котором отсутствовали жировые капли. Общий срок выращивания культур составлял 43—45 дней.

Культура кладоспориума дала большое количество мелких спор, преимущественно продолговатых и эллипсообразных. Наблюдалось небольшое количество жировых капель в хорошо развитых мицелиях.

После исследования агаровых культур грибки вместе со средой подвергались высушиванию при температуре $50-60^{\circ}$ и размельче-

нию в порошок. Приготовленный материал исследовался на токсичность. Культура фузариума вызвала на коже кролика отек и геморагию, вокруг которой наблюдалось побеление; культура кладоспориума — более слабую реакцию: отек и побеление.

Вторая серия грибов была засеяна 27 мая 1946 г. на сахарозо-глюкозо-пептонный агар водным смывом маточной культуры. Материал для предварительного посева выращивался следующим образом. Из штаммов фузариума и кладоспориума, хранившихся в холодильнике, 30 апреля 1946 г. были произведены высевы на агар, который выдерживался при комнатной температуре в течение двух суток, а затем был перенесен в подвал при температуре $+1^{\circ}$. На 10-й день культуры замораживались и опять помещались в подвал, где оставались до 27 мая 1946 года. 27 мая был произведен массовый высев. Культуры находились 7 дней при комнатной температуре, а потом были помещены в подвал, где содержались до 15 июня 1946 г.

После проверки на стерильность и микологического анализа культуры высушивались в термостате при температуре 50° и после просушки измельчались в порошок. Культура фузариума вызывала на коже кролика резкий отек, сильную воспалительную реакцию и резкую геморагию, а кладоспориум — сильный отек, легкую, несплошную лейкоциторрейную пленку. При микологическом обследовании чистой культуры фузариума до выемок под микроскопом наблюдалось обильное количество макроконидий лимонно-грушеобразного вида. На поверхности агара мицелий был слабо развит, но он пронизывал всю среду. Кладоспориум дал также обильное количество спор с хорошо развитой грибницей.

Клинико-гематологические наблюдения

Опыты дачи культур грибов *Fusarium poae* и *Cladosporium eriphylum* с кормом были поставлены в клинике сельхозинститута на трех лошадях. Суточный рацион состоял из 6 кг сена и 3 кг овса. Было поставлено 4 опыта. Перед началом каждого опыта все лошади подвергались двукратному клинико-гематологическому исследованию. В дальнейшем за животными велось тщательное ежедневное наблюдение: производились исследования мочи на белок, кровь, сахар, а также кала. Исследования морфологического состава крови производились по общепринятой методике. В сыворотке крови определялись разновидности билирубина по ван дер Бергу и количественное содержание билирубина колориметром Дюбоска. Щелочной резерв плазмы крови определялся по ван Сляйку. Для всех исследований кровь бралась утром до кормления.

Первый опыт. Конь вороной масти, 16 лет, средней упитанности был поставлен на опыт 22 мая 1946 года. С 22 по 28 мая включительно подопытной лошади давалась культура грибка фузариум первой серии через день по 10,0 в болусе из пшеничной муки

(скормлено 40,0). С 28 мая по 5 июня включительно животное получало через день по 20,0 (всего скормлено 80,0). 7 июня в форме болюса введено внутрь 40,0 культуры грибка в один прием. 10 и 13 июня такая же доза грибка вводилась с помощью носоглоточного зонда. Таким образом, подопытное животное получило всего 240,0 культуры грибка в течение 23 дней.

За указанный период времени у лошади наблюдались некоторые изменения. Так, 3 июня отмечены незначительное повышение температуры тела и учащение пульса и дыхания, усиленное слюноотделение и побледнение конъюнктивы. Более выраженные отклонения в клинической картине были зарегистрированы 10 июня: гиперемия слизистой оболочки рта и незначительный дерматит на верхней и нижней губах. Явления стоматита возникали вследствие частичного воздействия грибков при разжевывании болюса и протекали в течение 3—4 дней. Аппетит обычно не нарушался, и лошадь сохраняла свою упитанность. При исследовании мочи и кала отклонений от нормы не отмечено.

В течение первых 2 недель опыта у подопытного коня наблюдалось снижение содержания гемоглобина, с 41 до 30% по Сали, без постоянного снижения количества эритроцитов. На протяжении всего опыта количество лейкоцитов, за исключением второго и третьего исследований, было незначительно повышено по сравнению с установленной нами нормой. На третий день после первой дачи 10,0 грибковой культуры количество лейкоцитов пало почти наполовину; снижение их числа началось уже на второй день после дачи грибковой культуры. Эта кратковременная лейкопения сопровождалась значительным снижением содержания гемоглобина и снижением количества нейтрофилов и эозинофилов с резким лимфоцитозом (66,5%), который через три дня исчез. Щелочной резерв крови колебался в физиологических пределах и имел тенденцию к небольшому снижению на протяжении всего опыта. Содержание билирубина в сыворотке крови с 0,7 мг% максимально возрастало до 1,0—1,07 мг%.

Второй опыт. 21 июня для испытания действия культуры грибка фузариума второй серии была поставлена под опыт лошадь, которой перед этим давалась культура грибка первой серии. От окончания опыта дачи культуры фузариума первой серии до дачи культуры грибка второй серии прошло 7 дней. 21 июня подопытной лошади было введено 40,0 грибка второй серии через носоглоточный зонд.

Утром 22 июня лошадь отказалась от корма и воды и имела угнетенный вид. Температура тела 38,5, пульс 72, дыхание 14. Видимые слизистые оболочки резко гиперемированы. На третьем веке—точечные кровоизлияния. В ротовой полости пища с неприятным, гнилостным запахом; профузный понос. К вечеру состояние резко ухудшилось; лошадь больше лежала и стонала. 23 июня в 6 часов утра лошадь пала.

В морфологическом составе крови у подопытного животного были значительные изменения, наступившие на другой день после дачи грибковой культуры. Количество эритроцитов возросло по сравнению с исходным почти в два раза, содержание гемоглобина повысилось с 48 до 81 % по Сали, без изменения цветного показателя; количество лейкоцитов с 6,1 тыс. возросло до 9,1 тыс. в 1 куб. мм; в лейкоцитарной формуле также наблюдались изменения: уменьшилось число нейтрофилов, с 52 до 35 %, и повысилось количество лимфоцитов, с 40,5 до 54 %, и эозинофилов — с 5,5 до 7,5 %. Щелочной резерв крови незначительно изменился в сторону ацидоза. Содержание билирубина в сыворотке крови повысилась с 0,52 до 1,41 мг%, реакция по ван дер Бергу прямая-замедленная.

Третий опыт. Осенью 1946 г. нами был поставлен опыт по даче малых доз культуры фузариума второй серии на лошади серой масти, 14 лет, хорошей упитанности. Суточный рацион состоял из 8 кг сена и 2 кг овса.

16 октября 1946 г. подопытному животному в первый раз дано 2,0 культуры грибка в болюсе из пшеничной муки. На следующий день у лошади отмечались небольшое повышение температуры, учащение пульса и дыхания и незначительное покраснение слизистой оболочки рта. В связи с этими явлениями следующая доза культуры была снижена. 18 и 20 октября животному дано по 1,0 грибка. В дальнейшем доза постепенно увеличивалась. 22 и 24 октября дано по 2,0, 26 октября — 3,0, 28 и 30 октября — по 5,0. 31 октября у лошади наблюдались слюнотечение, гиперемия слизистой оболочки рта, язвочки в углах рта и на краях верхней губы. Конъюнктура резко гиперемирована, кровеносные сосуды ее сильно налиты кровью. Прием грубого корма был затруднен. Со стороны сердца, легких и кишечника видимых отклонений не отмечалось. Клинические признаки заболевания спустя 5 дней исчезли.

Чтобы уменьшить раздражение слизистой оболочки рта, культура грибка вводилась лошади через носоглоточный зонд. 3 ноября введено 3,0, 4 ноября — 4,0 и 11 ноября — 10,0. 12 ноября отмечались гиперемия конъюнктивы и разжижение каловых масс. 13 ноября введено 10,0 и через 2 дня — 13,0 грибка и 2,0 распылено в ротовой полости с целью аппликации грибков на слизистую оболочку рта и глотки. 18 того же месяца введено 14,0 и 2,0 грибка распылено в ротовой полости. На следующий день у лошади уменьшился аппетит. Отмечена некоторая неловкость в движениях, напоминающая состояние при ревматическом воспалении копыт; конъюнктура и слизистая оболочка рта покрасневшие. Наблюдалось незначительное повышение температуры тела, учащение пульса и дыхания. 23 ноября признаки заболевания исчезли. В моче и кале за опытный период отклонений от нормы не обнаружено.

Морфологические, весьма незначительные изменения крови у лошади совпадали во времени с появлением клинических признаков. Так, 31 октября наблюдалось повышение процента нейтрофилов (62 %). В дальнейшем, по мере увеличения дозы фузариозной

культуры, до конца опыта отмечалась тенденция к небольшому повышению числа нейтрофилов. Общее количество лейкоцитов на протяжении всего опыта не повышалось. Количество эритроцитов по сравнению с исходными данными изменялось мало, а цветной показатель незначительно снижался. Щелочной резерв крови оставался в физиологических пределах. Содержание билирубина в сыворотке крови в период дачи больших доз грибковой культуры максимально повысилось до 1,07 мг% и вместе с этим реакция ван дер Берга становилась прямой-замедленной. Опыт был приостановлен ввиду использования всего наличия культуры грибка.

Четвертый опыт. Для испытания действия культуры кладоспориума первой серии поставлен под опыт конь, саврасой масти, 18 лет, нижесредней упитанности. С 22 по 28 мая культура грибка давалась лошади через день по 10,0 в болюсе из пшеничной муки (всего скормлено 40,0). С 28 мая по 5 июня животное получало через день по 20,0 (дано 80,0). 21 июня лошади введено через носоглоточный зонд 40,0 культуры грибка кладоспориума второй серии. 22 июня такая же доза была повторена, а 24 июня дано 70,0 культуры грибка. Всего лошадь получила 270,0 культуры грибка обеих серий.

За весь период опыта у лошади видимых отклонений не отмечено. Животное имело бодрый вид, упитанность повышалась. Отмечено небольшое повышение содержания гемоглобина в крови, которое наблюдалось параллельно с повышением упитанности лошади. Количество эритроцитов и лейкоцитов незначительно то повышалось, то понижалось, причем увязать изменения в крови с клиническим статусом животного не было оснований. На протяжении всего опыта лейкоцитарная формула, даже до дачи грибковой культуры, характеризовалась значительным лимфоцитозом. Наиболее резкий лимфоцитоз (70%) появился у лошади после дачи культуры грибка второй серии. Щелочной резерв колебался в узких физиологических пределах. Содержание билирубина в крови в течение всего опыта было сравнительно высоким (1,0—1,35), за исключением десятидневного периода, когда он снижался до средних физиологических пределов.

Определение токсичности кала и мочи от подопытных животных производилось путем аппликации экстракта на депилированную кожу кроликов. Для исследования кал брался в количестве 100,0—200,0 и моча — 500 куб. см. Высушенный в сушильном шкафу кал экстрагировался 70% спиртом с последующей обработкой эфиром. Моча выпаривалась и экстрагировалась эфиром или подкислялась 10% раствором соляной кислоты ($\text{pH} = 5$) и экстрагировалась эфиром без выпаривания.

В первом опыте, после получения лошадей 30,0 культуры грибка, экстракты из мочи отличались слабой токсичностью. В дальнейшем кожная реакция у кролика ограничилась покраснением и небольшим отеком; ни лейкоциторреией, ни геморрагической пленкой не образовалось.

Во втором опыте моча и кал от лошади, получившей 40,0 культуры грибка фузариум второй серии, были взяты для исследования через 12 часов после скармливания. Результаты исследования кожной пробой следующие: экстракт через 24 часа вызвал покраснение и отек; через 48 часов лейкоциторрею, через 72 часа сильную лейкоциторрею по периферии и некроз в центре отека (темнокоричневая корочка). Экстракт кала вызвал через 24 часа покраснение кожи кролика, через 48 часов — отек, через 72 часа — лейкоциторрею.

В третьем опыте, при даче малых доз токсической культуры фузариума второй серии, кожная реакция после нанесения экстрактов из мочи и кала дала более положительные показания, чем при скармливании первой серии того же грибка, хотя дозы первой серии были значительно выше. В данном опыте кожная реакция стала наблюдаться после второй дачи грибка, но в виде слабого отека и слабой лейкоциторреи. Реакция с покраснением, отеком и лейкоциторрейной пленкой отмечена после шестой дачи грибка — 27 октября; в дальнейшем она держалась до 19 ноября, в течение всего времени повышенных дач грибка. С 20 ноября, после прекращения дачи грибка, кожная реакция, вызываемая экстрактом из мочи, начала ослабевать и 22-го оказалась отрицательной; экстракт из кала вызвал слабый отек и образование лейкоциторрейной пленки — до 28 ноября.

В четвертом опыте, после получения культуры кладоспориума первой серии, экстракты мочи и кала вызывали у кролика кожную реакцию только к концу, именно: 1—3—5 июля, в виде покраснения и слабого отека. После получения 150,0 культуры грибка кладоспориум второй серии нанесение экстрактов мочи и кала вызвало у кролика реакцию через 48 часов в виде покраснения, а через 72 часа — лейкоциторрею.

Патологоанатомическая картина

Патологоанатомическому вскрытию подвергся труп лошади, которой давалась культура грибка фузариум последовательно обеих серий (опыт второй).

В подкожной клетчатке достаточное количество жира, местами пятнистые кровоизлияния. На слизистой оболочке языка (на дорзальной поверхности) красные пятна, вдающиеся в мышечный слой; на вентральной поверхности — единичные точечные кровоизлияния. Слизистые оболочки глотки и пищевода стойкие, в подслизистой пятнистые кровоизлияния. На серозной оболочке тонких и толстых кишок, а также на слизистой оболочке тонких кишок много точечных кровоизлияний. На слизистой ободочной кишки несколько некротических очагов круглой формы, величиной с горошину. Печень слегка увеличена, полнокровна, на разрезе местами пестровая. Почки несколько увеличены, дрябловаты; фиброзная капсула местами сдвигается вместе с паренхимой. Сосуды поверхности почек

налиты; корковый слой сероватый, мозговой слой интенсивно покрасневший. Надпочечник интенсивно покрасневший. Селезенка незначительно увеличена, с несколькими геморрагическими инфарктами. Слизистая оболочка мочевого пузыря слегка покрасневшая. Слизистая оболочка гортани интенсивно покрасневшая, с множеством крупных кровоизлияний. В просвете трахеи большое количество пенистой жидкости, на всем протяжении слизистой оболочки много петехий. На плевре (реберной) много точечных кровоизлияний. Легкие полнокровные, в них много поверхностно расположенных точечных и пятнистых кровоизлияний. В полости перикарда содержится около стакана жидкости соломенно-желтого цвета. Мышца сердечная с сероватым оттенком; на ней, под эпикардом и эндокардом, главным образом у основания сердца, много точечных и пятнистых кровоизлияний. Лимфатические узлы слегка увеличены, резко геморрагически инфильтрированы. Головной мозг гиперемирован.

Гистологическое исследование. В легких сильно выражена застойная гиперемия, большое количество бурого, мелкими крупинками пигмента, располагающегося вне клеток. Тромбоз отдельных сосудов и кровоизлияния. Некоторые мелкие бронхи растянуты, вокруг них — небольшие круглоклеточные скопления. В мышечной ткани сердца и под эпикардом — кровоизлияния; мышечные волокна несколько набухшие, в некоторых поперечная исчерченность утрачена; ядра не окрашиваются, волокна местами распадаются на глыбки, местами гомогенизированы. Печень сильно гиперемирована, между балками отдельные нейтрофильные лейкоциты. Во многих местах кровоизлияния: как в паренхиме, так и в интерстиции. Незначительная пролиферация Купферовских клеток, видны в небольшом количестве лимфоидные клетки. В печеночных клетках довольно много жира в виде мелких и крупных капель.

В почках сосуды клубочков и сосуды между канальцами сильно налиты кровью; эндотелий клубочков набухший, в полости Бауменовской капсулы — однородная полупросвечивающая свернувшаяся масса, с клетками лимфоидного типа. Эпителий мочевых канальцев набухший; граница между клетками сглажена, в протоплазме — зернистость, ядра клеток уплотнены. Встречаются группы извитых канальцев, полностью некротизированные. В надпочечниках — кровоизлияния, местами диффузного характера, расположенные главным образом в клубочковой зоне. В корковом веществе — небольшие некротические участки. В подслизистой глотки местами кровоизлияния. На языке резко выражена венозная гиперемия: обширные кровоизлияния, захватывающие как слизистую оболочку, так и глубокие слои мышечной ткани. Венозные сосуды трахеи сильно налиты кровью; значительные кровоизлияния в подслизистом слое. Эпителий местами слущившийся.

Сосуды надгортанника переполнены кровью, имеются обширные кровоизлияния; в этих местах, вне клеток, зернышки бурого пигмента. В двенадцатиперстной кишке в подслизистом слое волокна соединительной ткани раздвинуты, между ними розовая однородная

масса; большое количество эритроцитов и лейкоцитов, особенно в межмышечной соединительной ткани. Слизистая инфильтрирована значительным количеством лимфоидного типа клеток. В тощей кишке дегенерация и слущивание эпителия слизистой, между железистыми пузырьками и в подслизистом слое в большом количестве мелкие округлые клетки, типа лимфоидных; попадают клетки типа эпителиальных и эозинофилы. В толстых кишках — отечность подслизистого слоя (нерезкая); видны лейкоциты — нейтрофилы и эозинофилы; эпителиальные клетки слизистой оболочки местами слущиваются. В некоторых местах на слизистой оболочке — некротические очаги с наличием по периферии их очень большого количества лейкоцитов; в центре таких очагов кучками зернистые массы, окрашенные эозином в красный цвет (паразитарные очаги). В лимфоузлах крупные кровоизлияния, местами диффузного характера; стенки средних сосудов набухшие и гомогенизированные.

Таким образом, патологоанатомическая и гистологическая картина характеризуется в основном массовыми кровоизлияниями в слизистую и серозную оболочки, перенхиматозных органах, лимфатических узлах и других местах. Кроме того, следует отметить серозный нефрит, дегенеративные явления в сердечной мышце и печени, гомогенизацию стенок средних по величине кровеносных сосудов в лимфоузлах и незначительный некроз в надпочечниках.

В ы в о д ы

1. Степень токсичности грибка фузариум в значительной мере зависит от внешних условий выращивания культур.

2. Вторая серия культуры грибка фузариум, выращенная при низкой температуре, более токсичная, чем первая, вызывала гибель животного через 36 часов после однократного приема внутрь в дозе 40,0.

3. Клиническая, патологоанатомическая и гистологическая картины у лошади, получавшей фузариозные культуры (опыт второй), характеризуются явлениями геморрагического диатеза. Дача культур грибка кладоспориум обеих серий не вызывала заметного токсического действия.

4. Токсины обоих видов грибков выделялись из организма лошадей с мочей и калом, что установлено нами путем аппликации экстракта кала и мочи на депиллированную кожу кролика.

5. Наиболее резкую кожную реакцию у кролика вызывали экстракты из мочи и кала от подопытных животных, получавших культуры грибка фузариум второй серии.

6. Согласно нашим данным, из испытанных нами грибков более токсичным оказался *Fusarium rose*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биляй В. И. Микробиология. Изд. Академии наук СССР, том XVI, вып. I, 1947.
2. Иоффе А. Э., Миронов С. Г. Труды Чкаловского института эпидемиологии и микробиологии, том II, 28—34, 1947.
3. Лукин А. Я., Антонов Н. А., Симонов И. Н. Труды Чкаловского сельхозинститута, том III, 1947.
4. Лукин А. Я., Берлин М. Г. «Ветеринария», № 1, 1947.
5. Лукин А. Я., Берлин М. Г. Труды Чкаловского сельхозинститута, том III, 1947.
6. Пидопличка М., Биляй В. И. Токсичные грибы на зерновых хлебных злаках. Академия наук Украинской ССР, 1946.
7. Райлло А. И. Труды института защиты растений, том II, вып. 7, 1935.
8. Райлло А. И. Труды ботанического института Академии наук СССР, 1946.
9. Фок Р. А. Труды Чкаловского института эпидемиологии и микробиологии, том II, 1947.