

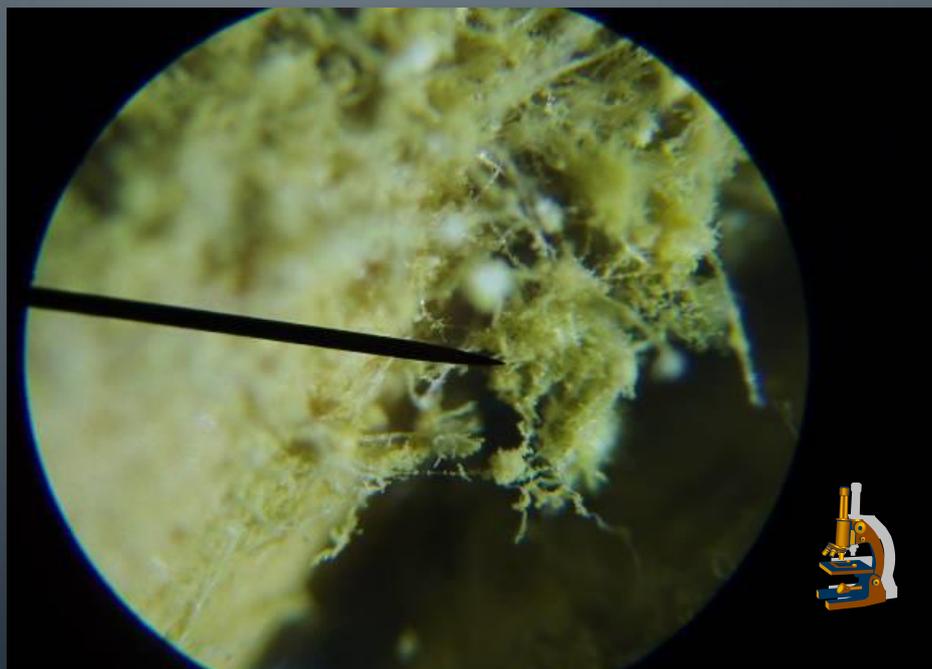


Казахский агротехнический исследовательский
университет им. С. Сейфуллина
Кафедра Ветеринарной санитарии



Лекция №6

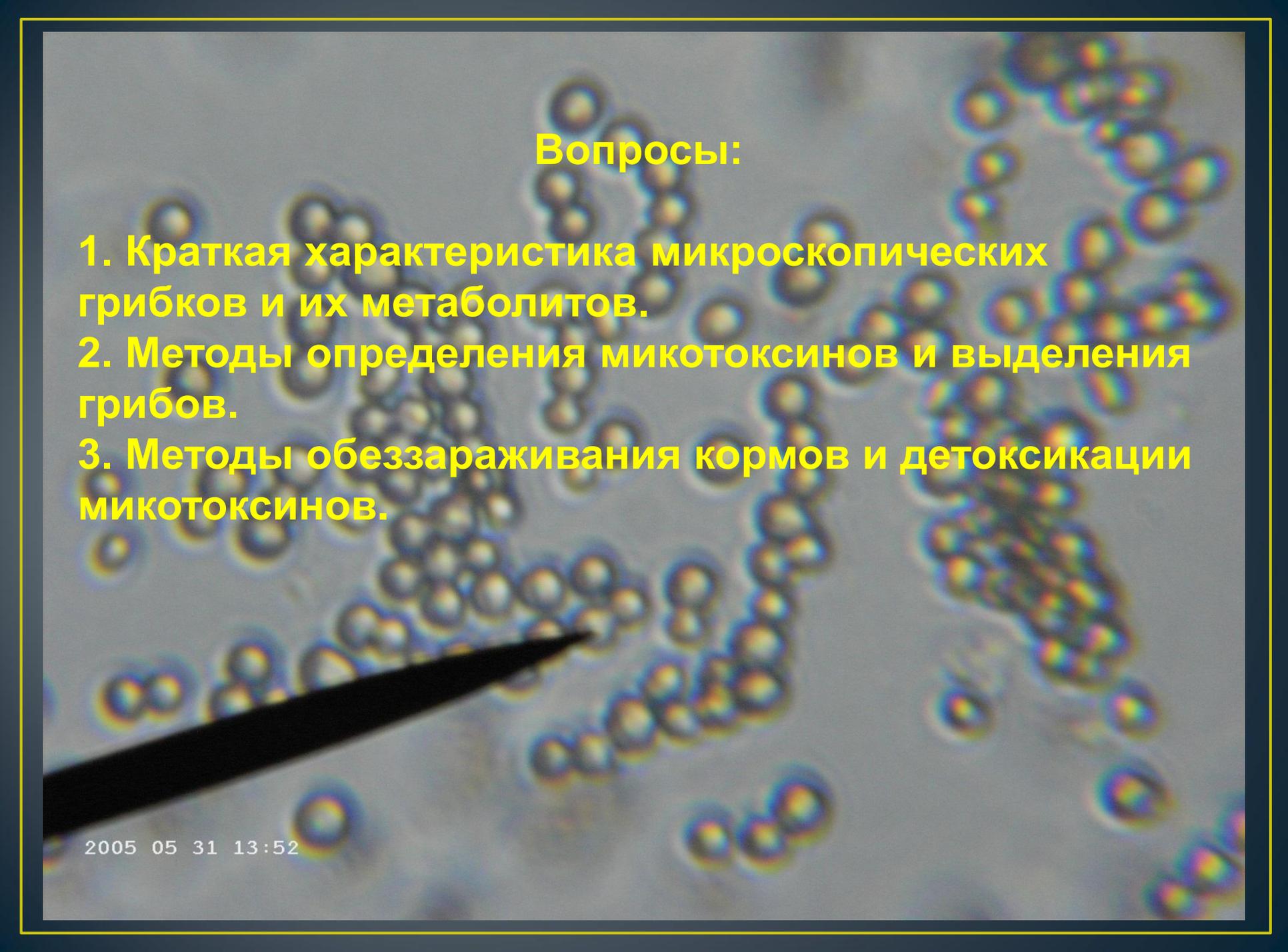
КОНТАМИНАЦИЯ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОВОДСТВА МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБКАМИ И МИКОТОКСИНАМИ



Астана, 2024

к.вет.н., и.о. профессора Балджи Ю.А.

Balji-Y ©

A microscopic view of yeast cells, likely Saccharomyces cerevisiae, showing individual cells and chains of cells. The cells are roughly spherical and have a distinct cell wall. A black arrow points from the bottom left towards a cluster of cells in the center of the frame.

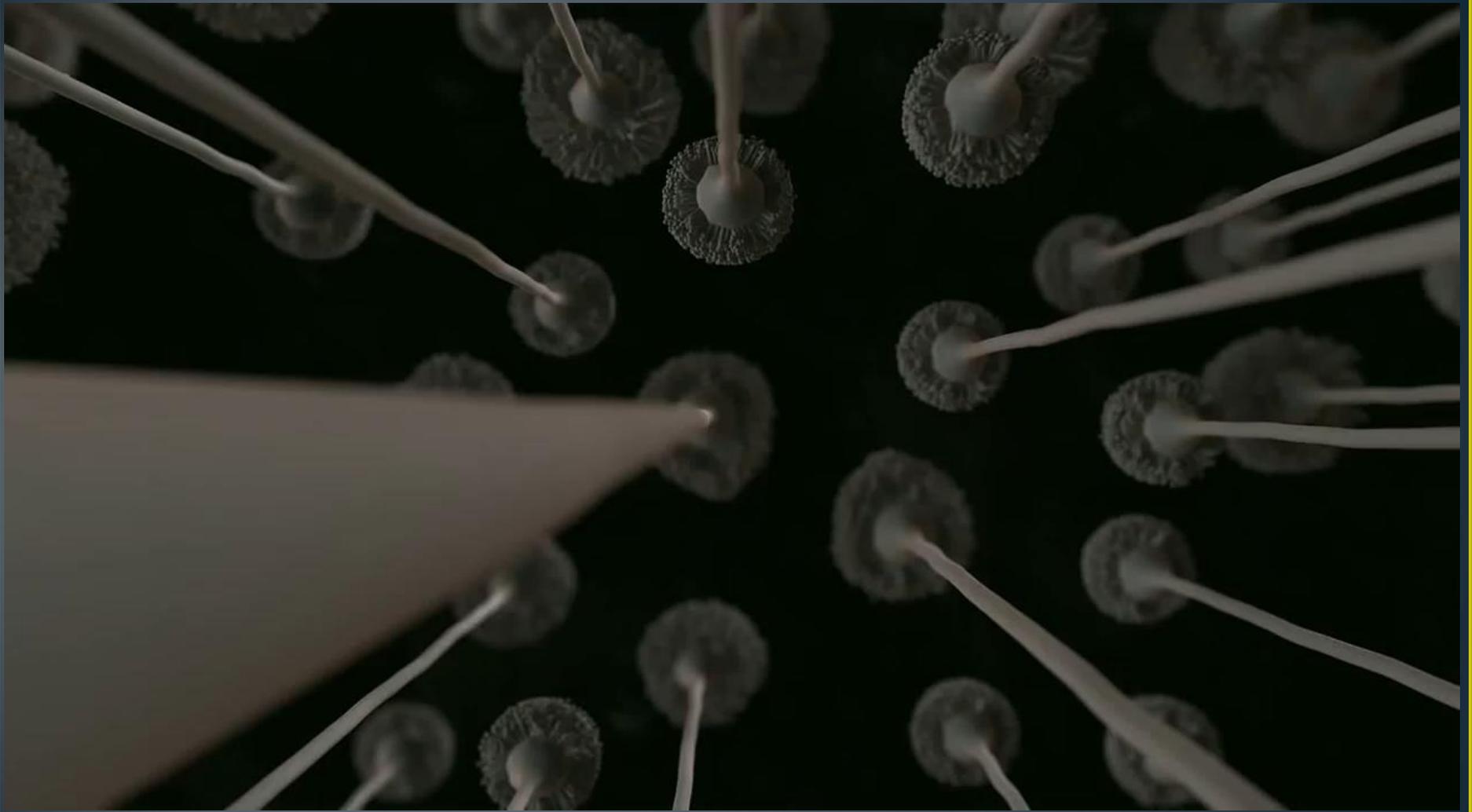
Вопросы:

1. Краткая характеристика микроскопических грибов и их метаболитов.
2. Методы определения микотоксинов и выделения грибов.
3. Методы обеззараживания кормов и детоксикации микотоксинов.



Грибы – это хемоорганотрофные микроорганизмы с эукариотической клеточной организацией, лишённые фотосинтетических пигментов. Грибы относят к классу *Fungi* (лат.) или *Mycota* (греч.), включающему в себя около 120 000 видов.

Тело гриба (таллом) состоит из мицелия, а мицелий в свою очередь – из множества тонких нитей – гиф.



В настоящее время известно более **250** видов микроскопических грибов, продуцирующих по разным данным более **400** микотоксинов (Ji et al., 2016).

Наибольшую опасность представляют токсины грибов рода ***Aspergillus, Fusarium, Penicillium***.

К числу наиболее опасных микотоксинов относят:

афлатоксины,
охратоксины,
зеараленон,
трихотеценовые микотоксины,
цитринин,
патулин,
треморгенные микотоксины,
эрготоксины
(Anfossi et al., 2016).

По оценкам ФАО/ВОЗ, не менее 25% сельскохозяйственных культур во всем мире, включая особенно зерновые, рис и орехи, были загрязнены микотоксинами (Eskola et al., 2019).



Афлатоксин В1 (AFB1), охратоксин А (ОТА), дезоксиниваленол (DON), токсин Т-2 (Т-2), фумонизин В1 (FB1) и зеараленон (ZEA) являются теми, которые законодательно закреплены Европейским агентством по безопасности пищевых продуктов (EFSA), более контролируемы в пищевых продуктах и кормах и, следовательно, обычно определяются и более изучаются



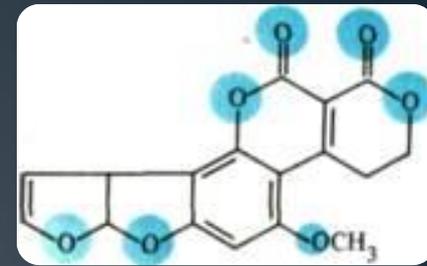
Фумонизин В1 (FB1), продуцируемый фузариозом, как и АFB1, является канцерогеном и в первую очередь проявляет нейротоксичность и иммунотоксичность. Зеараленон (ZEA) представляет собой токсин эстрогена, продуцируемый фузариозом, и в первую очередь проявляет репродуктивную токсичность и иммунотоксичность (Food and Chemical Toxicology. Volume 163, May 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112895>).

Последние результаты исследований Yuhang Suna, Kehe Huang и соавт. (<https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112895>, 2022) показывают, что основные группы микотоксинов - афлатоксин В1 (AFB1), охратоксин А (ОТА), дезоксиниваленол (DON), токсин Т-2 (Т-2), фумонизин В1 (FB1) и зеараленон (ZEA) наряду с известными иммуносупрессивными свойствами, обладают и иммуномодулирующими свойствами в определенных условиях.

Афлатоксин В1 (AFB1),
охратоксин А (ОТА),
дезоксиниваленол (DON),
токсин Т-2 (Т-2),
фумонизин В1 (FB1),
зеараленон (ZEA) законодательно закреплены Европейским агентством по безопасности пищевых продуктов (EFSA).



Афлатоксины – одни из сильнейших канцерогенов биологического происхождения с ярко выраженной гепатотропностью.



В настоящее время к группе афлатоксинов, наряду с основными представителями – афлатоксинами B1, B2, G1, G2, относят ряд их производных – афлатоксины M1, M2, B2a, G2a, GM1, P1, Q1 и другие близкие по химической структуре и биохимическому действию соединения, такие как афлатоксикол, аспертоксин, стеригматоцистин и его производные.

В силу особой биологической активности и широкой распространенности особую опасность представляет афлатоксин B1.

Влияние микотоксинов

ZON, T-2, DON, Эргот

- Нерегулярные течки
- Аборты
- Ложная беременность
- Снижение оплодотворяемости
- Кисты яичника
- Потери эмбрионов
- Некроз хвоста
- Нимфомания
- Гиперактивность матки
- Сморщенные соски/отсутствие молока
- Рождение мертвого плода

T-2, DON, AFB₁, OTA, FUM, Эндоксин

- Кишечные кровотечения
- Поражения почек
- Побледнение и ожирение печени
- Оттек легких у свиней (PPE)
- Повышение потребления воды
- Температура*

DON - Дезоксиниваленол

ZON - Зеараленон

AFB₁ - Афлатоксин B₁

T-2 - Токсин T-2

FUM - Фумонизин

OTA - Охратоксин A

Эргот - Эргот Алкалоид

Эндотоксины

T-2, DON, Эргот

- Снижение потребления корма
- Повреждения ротовой полости и кожи
- Отсутствие аппетита
- Рвота
- Замедлительный рост

AFB₁, T-2, OTA

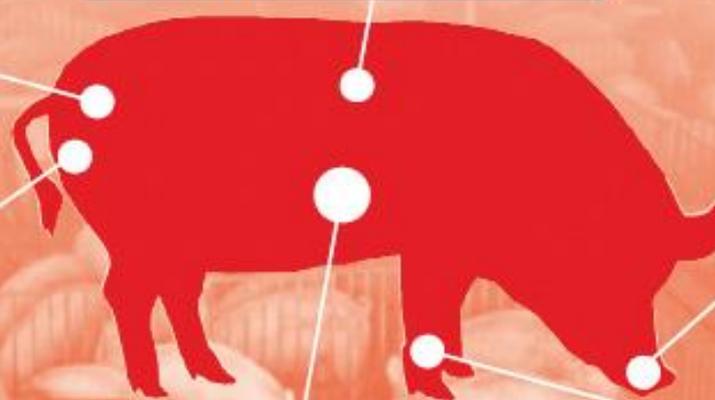
- Диарея
- Кровь в фекалиях и мочи
- Воспаление мочевых путей и почек

T-2, DON, AFB₁, OTA, FUM

- Снижение продуктивности
- Иммуносупрессия
- Некрозы поджелудочной железы

T-2, Эргот

- Повреждения кожи
- Сужение кровеносных сосудов (некроз)



*эндоксин - возбудитель болезней

Влияние микотоксинов

ЗЕН, ДОН, Т-2, ДАС, Эргот

- Снижение выводимости
- Снижение продуктивности
- Кисты яичников (оврииты)
- Эмбриональная смертность
- Задержка полового созревания

ОТА

- Поражение почек
- Увеличение потребления воды

ДОН - Деоксиниваленол

ЗЕН - Зеараленон

AFB₁ - Афлатоксин В₁

Т-2 - Т-2 Токсин

НТ-2 - НТ-2 Токсин

НИВ - Ниваленол

ДАС - диацетоксискирпенол

ОТА - Охратоксин А

Эргот - Эргот алкалоиды

AFB₁, Т-2, ДОН, ДАС, НИВ, ОТА

- Жировая дистрофия печени (ожирение)
- Иммуносупрессия
- Неоднородность поголовья
- Неравномерность оперения
- Нервный синдром

Т-2, НТ-2, НИВ, ДАС, ДОН, AFB₁, Эргот

- Повреждения кожи и ротовой полости
- Воспаление слизистой оболочки ротовой полости
- Респираторные заболевания

Яйцо:

AFB₁, ОТА, Т-2, ДОН, ЗЕН

- Остатки микотоксинов в яйце
- Низкое качество скорлупы яиц
- Мясные и кровяные пятна
- Сгущение желтка

Т-2, ДОН

- Поражения зоба
- Отказ от корма
- Снижение уровня потребления корма
- Диарея
- Вазоконстрикция (некроз)

Влияние микотоксинов

ЗЕН, Эргот

- Нерегулярные течки
- Низкий уровень оплодотворяемости
- Кисты яичников
- Гибель эмбрионов
- Аборты
- Слабое развитие семенников
- Снижение сперматогенеза

Т-2, ДОН, АFB₁

- Гастроэнтериты
- Кишечные кровоизлияния
- Нарушение функции рубца
- Диарея
- Кетозы

Эргот

- Нарушение терморегуляции
- Конвульсии

ДОН - Деоксиниваленол

ЗЕН - Зеараленон

АFB₁ - Афлатоксин В₁

Т-2 - Т-2 Токсин

Эргот - Эргот алкалоиды

Т-2, ДОН, Эргот

- Снижение уровня потребления корма
- Снижение продуктивности

ДОН, Эргот, Эндотоксины

- Хромота

АFB₁, Т-2, ДОН

- Контаминация молока
- Снижение удоев
- Маститы

Влияние микотоксинов

ДОН - дезоксиниваленол

ЗЕН - зеараленон

Афла В₁ - Афлатоксин В₁

Т-2 - Т-2 токсин

ОТА - охратоксин А

FB₁ - Фумонизин В₁

СТА - токсины рода
Stachybotrys

ЗЕН, алкалоиды спорыньи

- Изменение эстрального цикла
- Может быть причиной синдрома MRLS (синдром снижения репродуктивного потенциала маточного поголовья)
- Аборты
- Агалактия

FB₁, СТА, алкалоиды спорыньи

- Лейкоэнцефаломалия (обширный некроз белого вещества головного мозга)
- Нейротоксичный эффект
- Иммуносупрессия
- Кровотечения из носа
- Гнойные выделения из носа

Т-2, ДОН, Афла В₁

- Снижение потребления корма
- Значительная потеря веса

Т-2, ДОН, Афла В₁, FB₁, СТА, ОТА

- Иммуносупрессия
- Повышение риска колик
- Кровоизлияние в желудочно-кишечный тракт
- Повреждения печени и почек
- Диарея
- Канцерогенный и цитотоксичный эффект
- Снижение кровяного давления

FB₁, ДОН, алкалоиды спорыньи

- Головокружения (в связи с повреждением головного мозга)
- Хромота
- Ухудшение состояния копыт

Афла В₁, Т-2, ДОН

- Кровоизлияние во внутренние органы
- Кровяные выделения в пищеварительной системе
- Бледная печень (желтуха)

Лошади являются животными, у которых ферментное усвоение следует за ферментацией; следовательно, они столь же восприимчивы к воздействию микотоксинов, как и моногастрические животные. В отличие от продуктивного скота, основными критериями разведения большинства лошадей являются красота, атлетические данные и продуктивность. Афлатоксины представляют собой сильные токсины, влияющие на печень, являются иммуносупрессантами и ассоциируются со смертностью лошадей после потребления кукурузы, зараженной афлатоксином в концентрации 130 мкг. И хотя большинство коннозаводчиков не признают проблему микотоксинов в общем, они опасаются фумонизинов, которые могут привести к лейкоэнцефаломалии у лошадей (ELEM). Болезнь ELEM более известна как болезнь «Дыры в голове», вследствие разжижения нервной ткани в головном

мозге животного. Данное неврологическое заболевание является причиной возникновения серьезных клинических симптомов, включающих депрессию, головные боли, слепоту, хромоту и другие симптомы. Смерть может наступить в течение 4-12 часов после появления первого симптома, свидетельствующего о плохой координации. Как и в случае с прочими животными, зеараленон воздействует на репродуктивные показатели кобыл. Трихотецены, как и с остальными сельскохозяйственными животными, вызывают отказ от потребления корма, потерю аппетита, снижение показателей продуктивности, потерю веса и болезненный вид. Хронические эффекты также включают подавление иммунной системы – иммуносупрессию.

Допустимые уровни содержания микотоксинов в фуражном зерне

Наименование	Микотоксины	ПДК, мг/кг
Злаковые (пшеница, ячмень, овес, рожь, тритикале, просо, сорго, кукуруза).	Афлатоксин В ₁	0,02
	Охратоксин А	0,05
	Т-2 токсин	0,1
	Дезоксиниваленол	1,0
	Зеараленон	1,0
	Фумонизин (в кукурузе)	5,0
	Сумма афлатоксинов В ₁ , В ₂ , G ₁ , G ₂	0,02
	Зернобобовые (горох, люпин, кормовые бобы, вика, нут, чечевица, чина).	
Масличные (соя, рапс, подсолнечник).	Афлатоксин В ₁	0,02
	Охратоксин А	0,05
	Т-2 токсин	0,1
	Дезоксиниваленол	1,0
	Зеараленон	1,0

Допустимые уровни содержания микотоксинов в отдельных группах пищевых продуктов

Группа продуктов	Микотоксины	ПДК, мг/кг
Мясо и мясные продукты, яйца и яйцепродукты	Афлатоксин В ₁	0,005 (5 мкг) (5000 нг)
Молоко и молочные продукты	Афлатоксин М ₁	Не более 0,0005 (500 нг)
Хлебобулочные и мукомольно-крупяные изделия	Афлатоксины	0,005
	Зеараленон	1,0
	Т-2 токсин (дополнительно к зерновым, крупам, муке)	0,1
	Дезоксиниваленол (дополнительно к зерновым, крупам, муке, хлебобулочным изделиям)	0,5
	Дезоксиниваленол (пшеница твердых и сильных сортов)	1,0
Кондитерские изделия: сахаристые, конфеты и подобные изделия, какао, какао-порошок, шоколад, кофе	Афлатоксин В ₁	0,005
	Зеараленон (дополнительно к орехам)	1,0
	Для печенья регламентируются по сырью	
Фруктово-овощная продукция: свежие и свежемороженные овощи и картофель, фрукты и виноград, ягоды	Патулин	0,05
	Афлатоксин В ₁ (дополнительно для чая, овощных, фруктовых соков и пюре)	0,005
Жировые продукты: масло растительное, маргарин, масло коровье	Афлатоксин В ₁	0,005
	Зеараленон	1,0
	Афлатоксин В ₁ (сырье для детских и диетических продуктов)	Не более 0,001
	Афлатоксин М ₁	0,0005
Напитки и продукты брожения (пиво, вино, водка и другие спиртные напитки)	Микотоксины регламентируются в сырье	



Результат посева различных орехов на агар Чапека

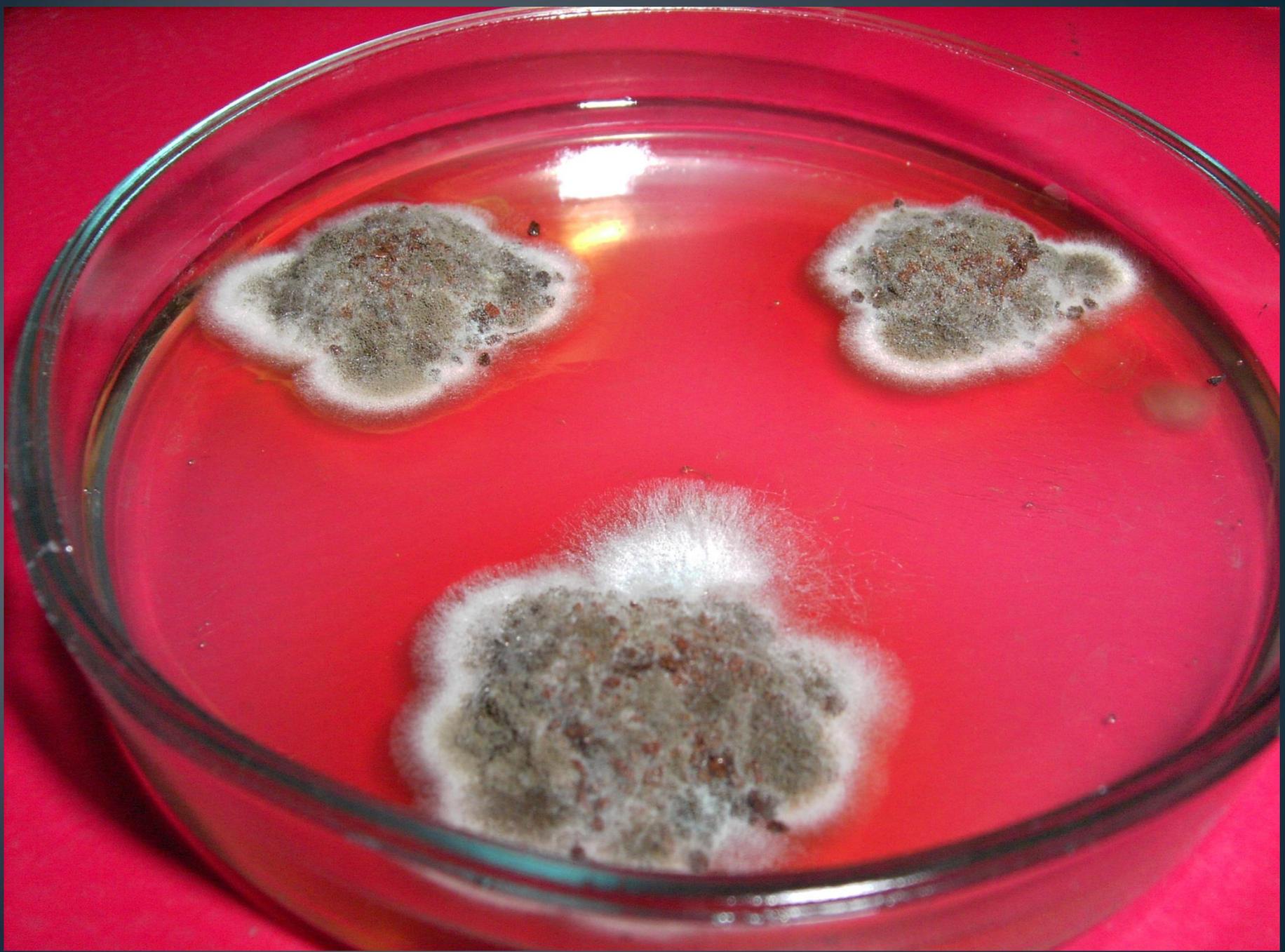
Результат посева проб чая на агар Чапека

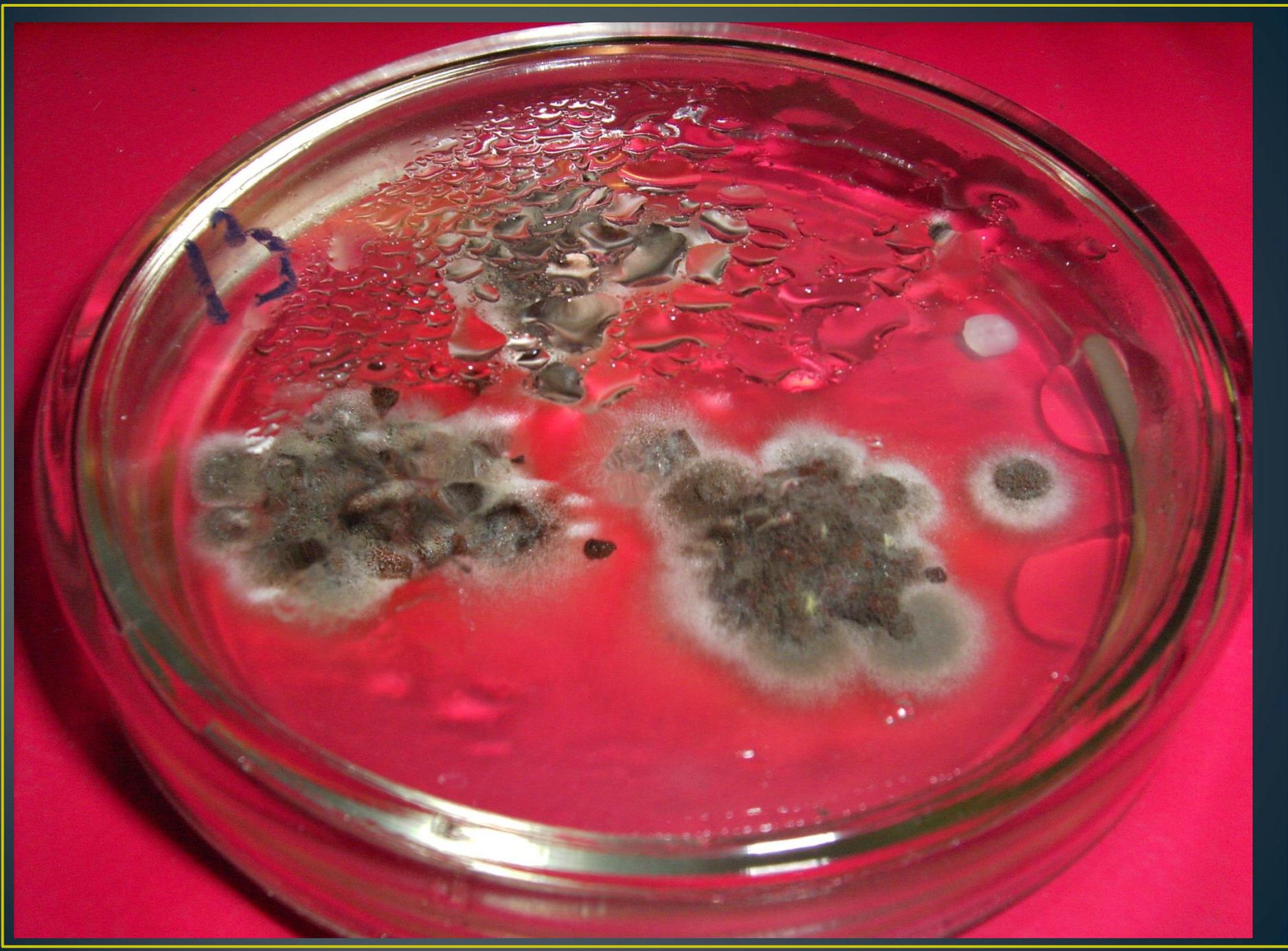






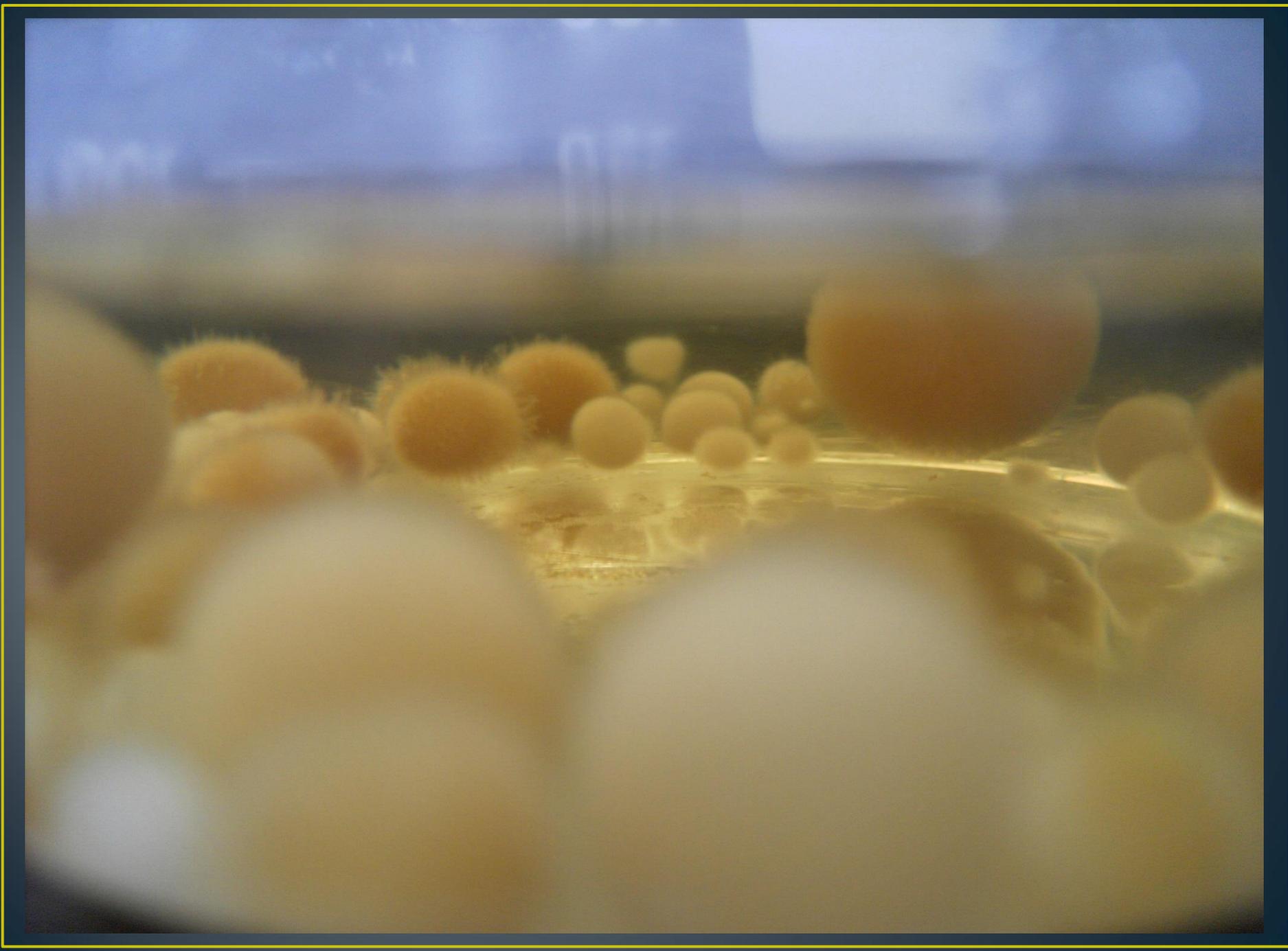




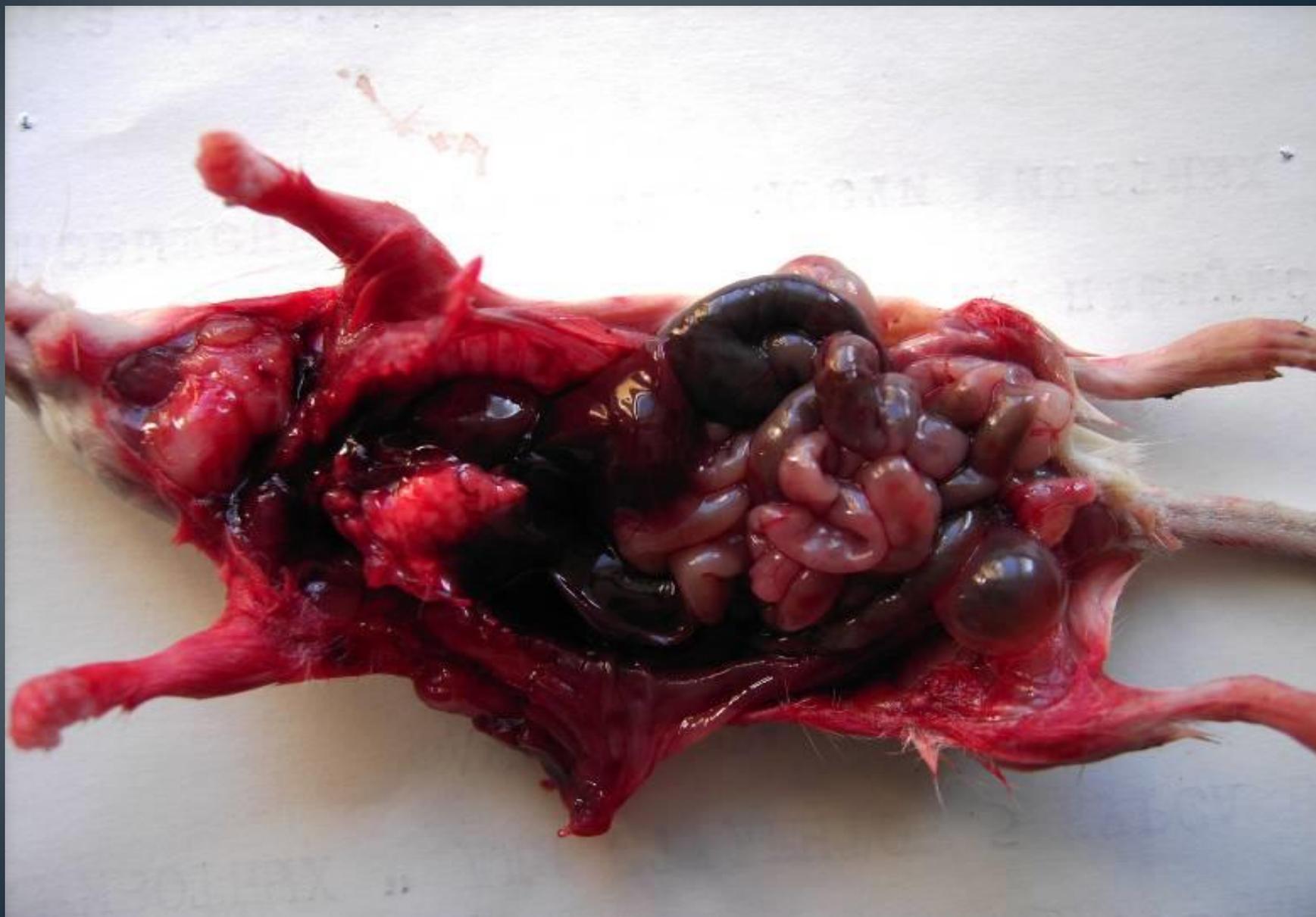


Резултат посева проб кофе Nescafe на агар Чапека





Патологоанатомические изменения при афлатоксикозе мышей



Курица больная афлатоксикозом



Выраженное истощение при афлатоксикозе



Геморрагическая инфильтрация легких курицы, при афлатоксикозе



Увеличение и дряблость печени курицы при афлатоксикозе



Некротические очаги в печени курицы при афлатоксикозе



Скрининг-методы:

- ТСХ
- ИФА
- ИХА (ИХМ)

Количественные аналитические методы:

- химические
- радиоиммунологические
- иммуноферментные

Методы ИФА и ИХА обладают высокой селективностью благодаря применению специфических антител.



В настоящее время наиболее распространенными являются химические методы, включающие две стадии:

стадию выделения и **стадию количественного определения микотоксинов**.

Стадия выделения включает:

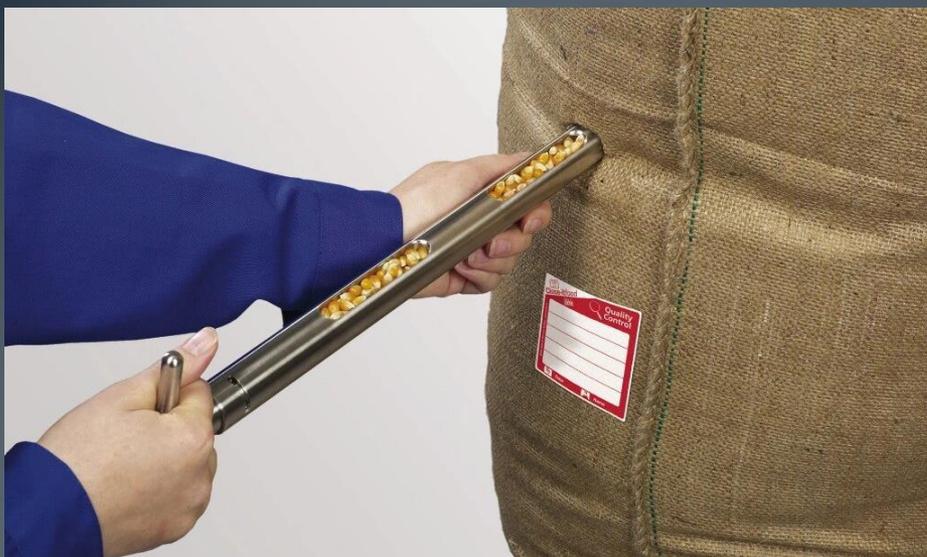
- **экстракцию** (отделение микотоксина от субстрата)
- **очистку** (отделение микотоксина от соединений с близкими физико-химическими характеристиками).

Окончательное разделение и количественное определение микотоксинов проводится с помощью различных хроматографических методов.



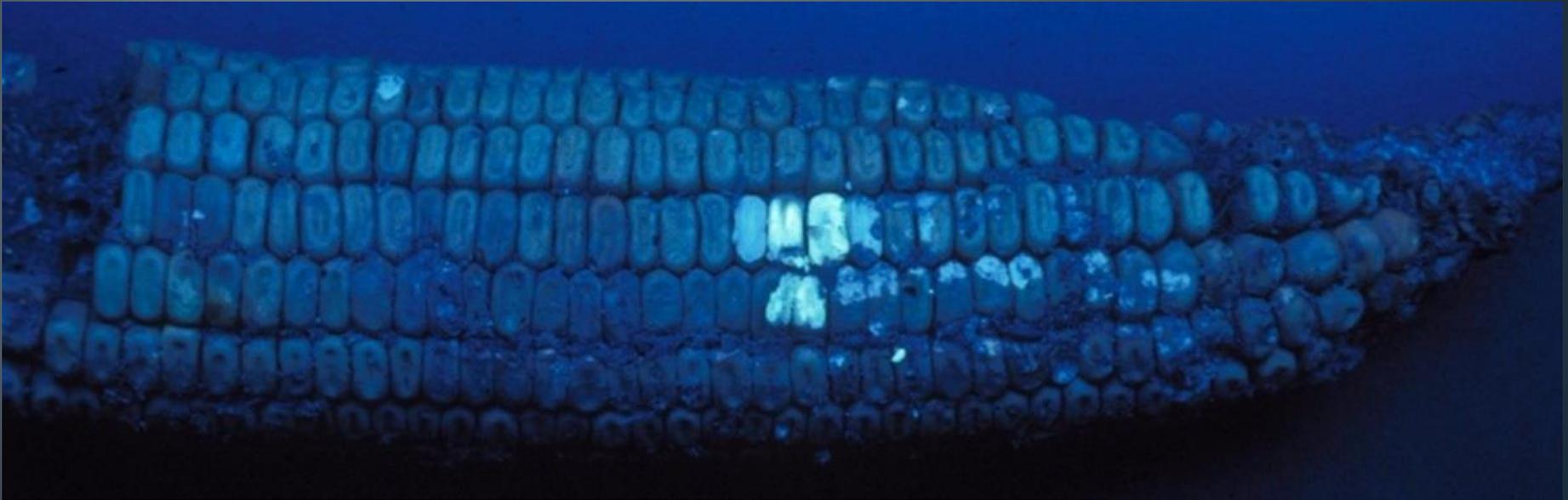
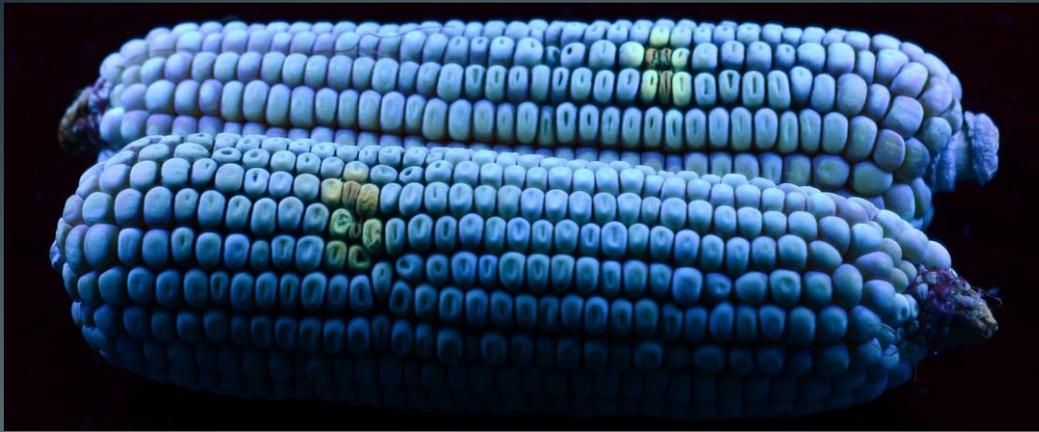


При отборе проб из партии продукта основной задачей является получение среднего образца или средней пробы, по концентрации микотоксинов являющейся представительной для всей партии (отобранные образцы должны характеризовать качество всей партии). Выполнение этой задачи зависит от природы и распределения микотоксинов, характеристики продукта (сырой, обработанный, сыпучий, жидкий, пастообразный и т.д.), способа подготовки образца.



С точки зрения однородности загрязнения микотоксинами все продукты можно разделить на две группы:

- 1) продукты с высокой степенью неоднородности (очищенный и неочищенный арахис, масличные семена, целые или грубомолотые зерна, орехи);
- 2) продукты с однородным характером загрязнения (жидкости: молоко, растительные масла, соки, пюре; мука, размолотые шроты).



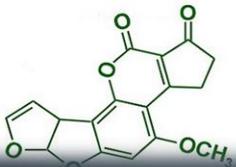
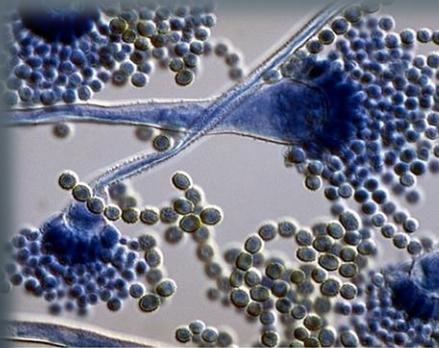
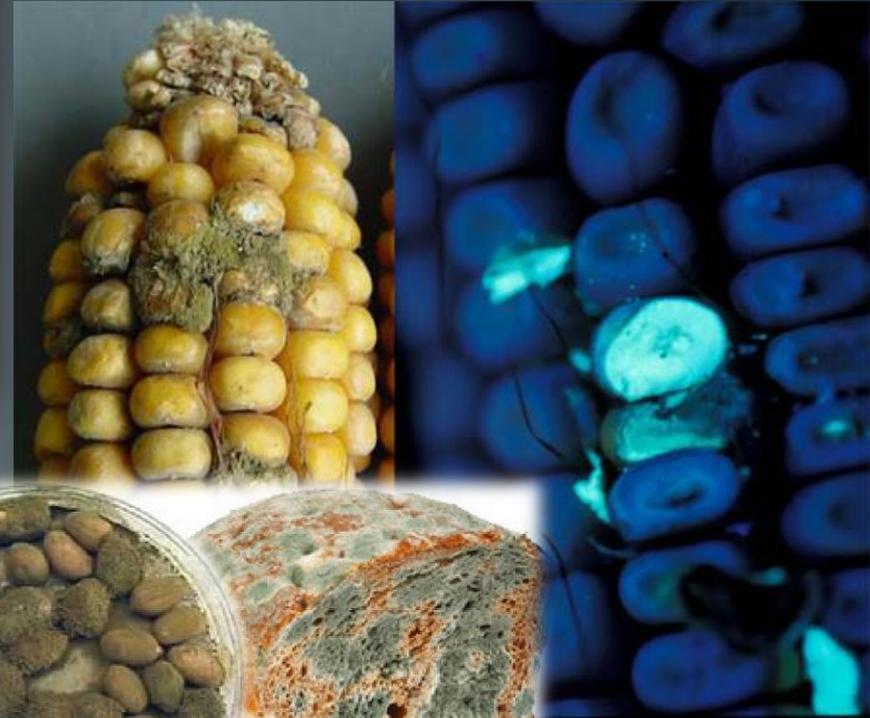
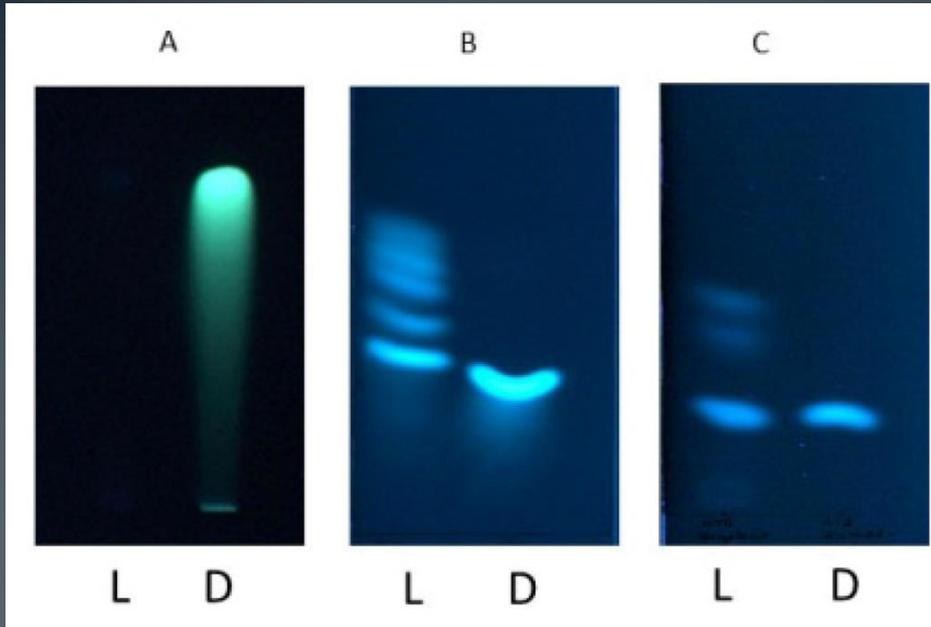
Афлатоксины обладают способностью сильно флюоресцировать при воздействии длинноволнового ультрафиолетового излучения, что лежит в основе практически всех физико-химических методов их обнаружения и количественного определения.

Тонкослойная хроматография:

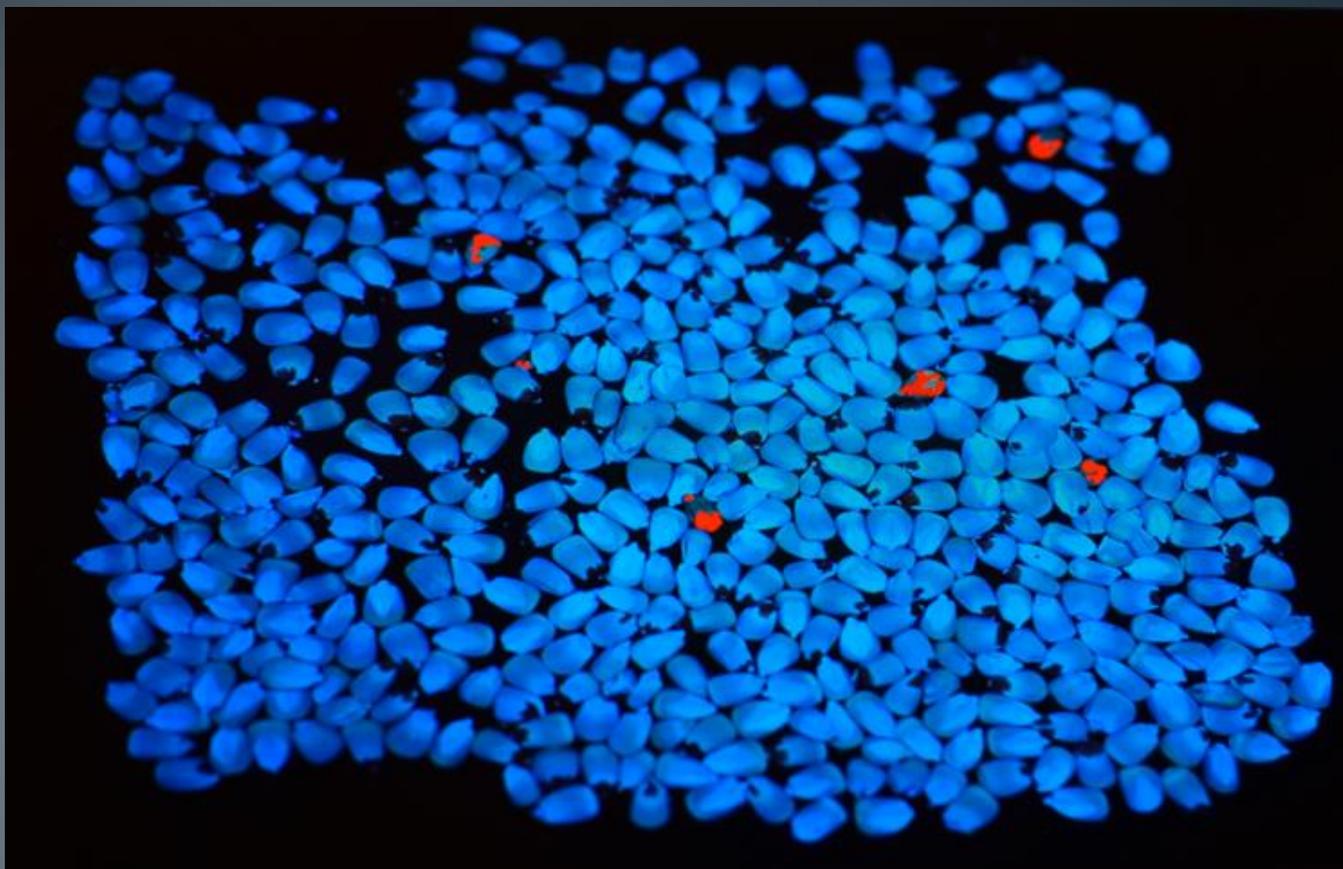
А – цитринин,

В – охратоксин А,

С – охратоксин В.



Aflatoksin B1



Лоток с ядрами под воздействием ультрафиолетового излучения высокой интенсивности с помощью планшета MAF-Sorter с использованием функции дополненной реальности для пометки ядер красным цветом, которые подозреваются в заражении афлатоксином.

04-08 июля 2022
г. Самара

Генеральный информационный партнер

Контроль
Качества
Продукции



III ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ Аккредитация Компетентность

создание информационно-коммуникационной среды
между аудиторами и аккредитованными лицами

МАСТЕР КЛАССЫ ДЕЛОВЫЕ ИГРЫ ДИСКУССИИ
НЕФОРМАЛЬНОЕ ОБЩЕНИЕ ЛЕКЦИИ КРУГЛЫЕ СТОЛЫ
ВСТРЕЧА С ВЕДУЩИМИ ЭКСПЕРТАМИ
РАЗБОР РЕАЛЬНЫХ КЕЙСОВ ИНТЕРАКТИВНАЯ ВЫСТАВКА
ПРЕСС-КОНФЕРЕНЦИЯ

КОНФЕРЕНЦИЯ ПОЗВОЛИТ:

- Максимально эффективно пройти предстоящие внешние проверки, получить положительные акты и сохранить статус аккредитованных лабораторий.
- Серьезно повысить компетентность в руководстве и построении системы менеджмента начальникам и сотрудникам лабораторий.
- Поднять качество проводимых измерений на более высокий уровень, получать достоверные результаты для своих заказчиков.



ОЖИДАЕМ 50 СПИКЕРОВ

ОЖИДАЕМ 2000 УЧАСТНИКОВ

РЕГИСТРИРУЙТЕСЬ НА III ВСЕРОССИЙСКУЮ КОНФЕРЕНЦИЮ
«АККРЕДИТАЦИЯ. КОМПЕТЕНТНОСТЬ»

Организатор ЧОУ ДПО «Учебный Центр Содействие»
+7 (800) 500-79-71; info@noudposodeistvie.ru
<http://conference-accreditation.com/>



Контроль Качества Продукции

www.ria-stk.ru/mos



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЖУРНАЛ
ДЛЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПРОДУКЦИИ И ЭКСПЕРТОВ ПО КАЧЕСТВУ

06/2022
ВАК · РИНЦ · DOI 10.35400

НАЦИОНАЛЬНАЯ СИСТЕМА
АККРЕДИТАЦИИ
Конфигуратор областей
аккредитации

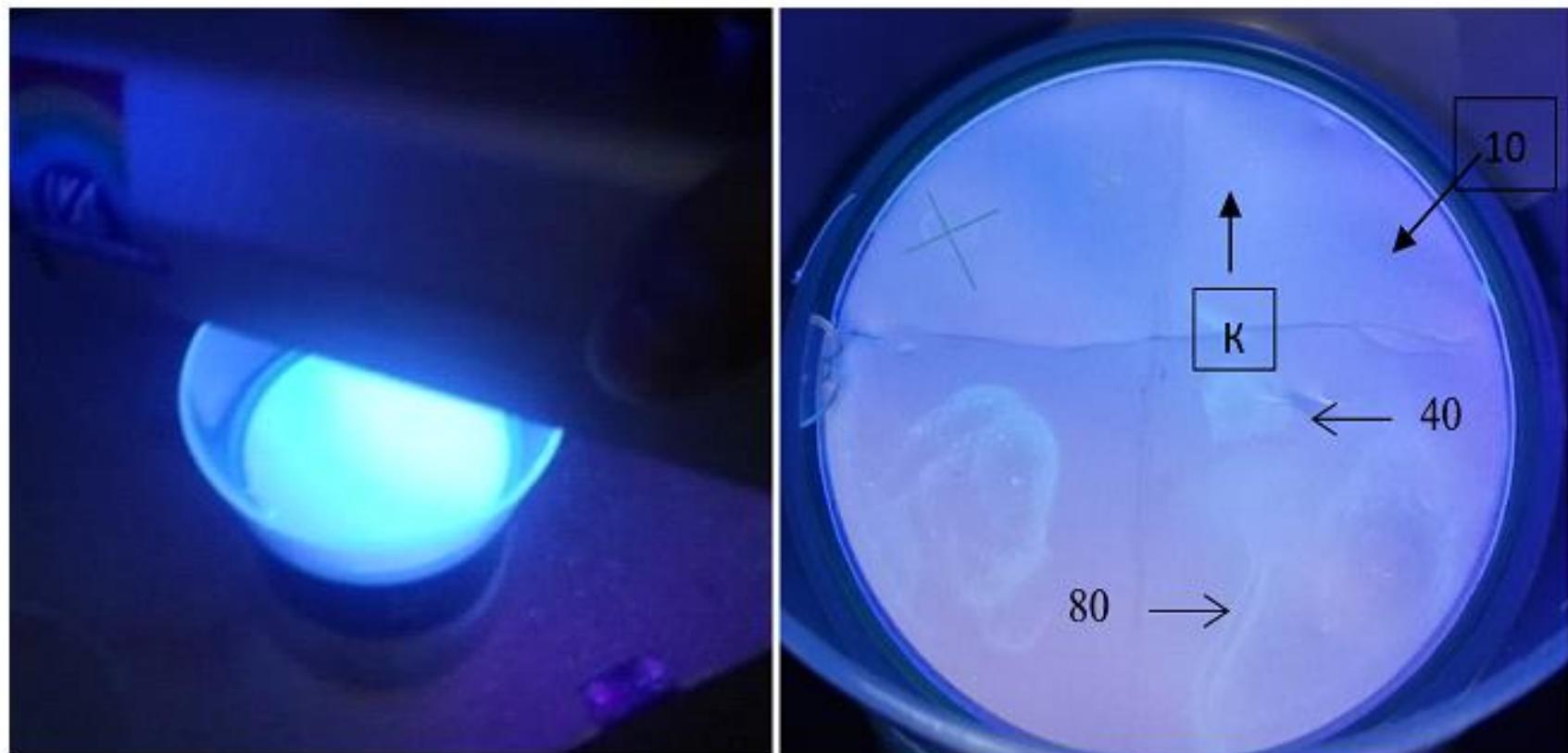
ИСПЫТАНИЯ, ИЗМЕРЕНИЯ,
АНАЛИЗ
Качественный анализ
в контроле качества

ККП-ПРОЕКТ
Испытания в системе
контроля качества продукции

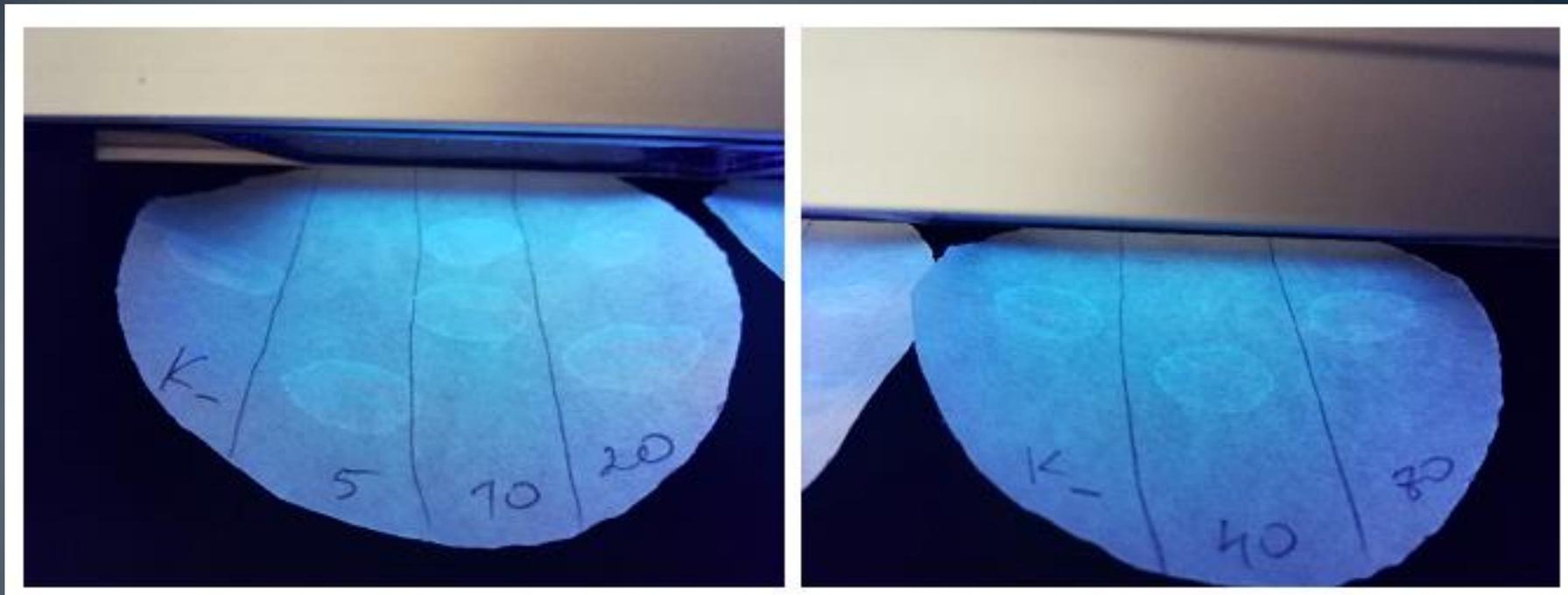


АККРЕДИТАЦИЯ:
ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ





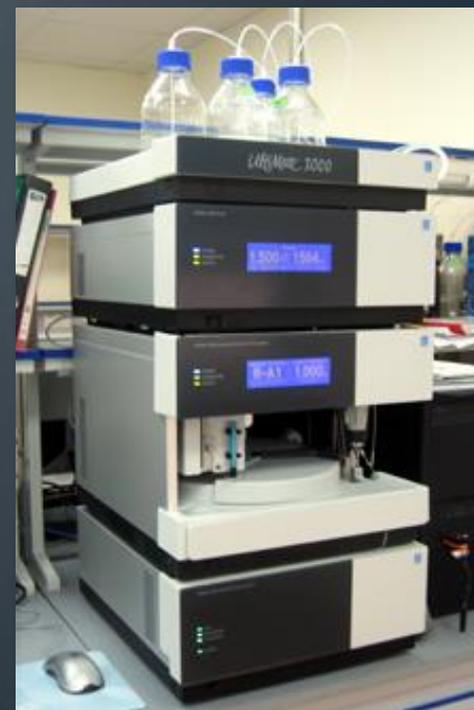
Детекция афлатоксина M_1 на мембранном фильтре в УФ-свете



Детекция афлатоксина M_1 на фильтровальной бумаге в УФ-свете

Арбитражными методами количественного определения микотоксинов являются следующие:

- газожидкостная хроматография (для Т-2 токсина);
- высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с использованием УФ-фотометрического детектора (для дезоксиниваленола и патулина);
- ВЭЖХ с использованием флуоресцентного детектора (для афлатоксинов и зеараленона).





Способы деконтаминации и детоксикации сырья и пищевых продуктов, загрязненных микотоксинами:

- **физические** (механические – отделение загрязненного материала вручную или с помощью электронно-калориметрических сортировщиков; и термические воздействия, например **экструдирование**; действие ультрафиолетового излучения; путем разбавления, т.е. смешивания с чистым сырьем),

- **химические** (обработка растворами окислителей, сильных кислот и оснований, в том числе озоном, вступающими в химические реакции с микотоксинами; гидролиз),

- **биологические** (обработка живыми бактериальными культурами и ферментными препаратами),

- **сорбционные** (с использованием разнообразных связывающих неорганических и органических агентов, кормовых добавок).

<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.01.017>