

УДК 579.22:582.28:66.081

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ МИЦЕЛИЯ ГРИБА *FUSARIUM SAMBUCINUM* И ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЕГО ЭКСТРАКТИВНОЙ ФОРМЫ***Зайцева А.В., **Зайцева В.В., *Дремач Г.Э.**

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», **УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова» г. Витебск, Республика Беларусь

Еще в древние времена некоторые грибы применяли в качестве целебных средств от различных заболеваний. Грибы сами собой представляют лекарственные препараты, содержащие все биологически активные вещества (БАВ), необходимые для сохранения здоровья.

Грибы богаты белками. Белки грибов содержат все 18 аминокислот, входящих в формулу сбалансированного питания [4]. В своем составе они содержат также незаменимые аминокислоты – триптофан, лизин, метионин.

Значительный удельный вес в составе липидов грибов составляют ненасыщенные жирные кислоты, из них 50 % приходится на линоленовую кислоту. Углеводы грибов представлены гликанами и органическими кислотами, в т.ч. яблочной, лимонной, янтарной. В грибах содержится значительное количество витаминов группы В (фолиевая кислота), никотиновой кислоты и убихинонов Q6, Q9, Q10, микро- и макроэлементов (насчитывается 22 жизненно важных элемента, в т.ч. Fe, Se, Co и др.).

В настоящее время грибы, особенно представители класса дейтеромицетов, широко используются в составе кормовых добавок [2]. Так, например, на Новополоцком заводе БВК Республики Беларусь выпускается кормовой продукт «Провит», в состав которого входит мицелий гриба *Fusarium sambucinum* и биомасса сахаромицетов [3]. Для разработки препаратов на основе мицелия гриба *Fusarium sambucinum* и его компонентов, необходимо изучить его патогенность и токсичность, что и стало целью наших исследований.

Материалы и методы. Работу проводили в виварии ОКК УП «Витебская биофабрика».

Культуру гриба *Fusarium sambucinum* выращивали на сусло-агаре специальным методом.

Исследования патогенности проводили на 2-х видах экспериментальных животных. В опытах было задействовано 9 кроликов массой тела 2300-2600 г и 20 белых мышей массой тела 20-22 г. Для заражения мышей и кроликов использовали гомогенат, полученный путем диспергирования гриба в растворе натрия хлорида. Полученный гомогенат концентрировали путем отстаивания и отбора верхнего слоя. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в полученном гомогенате определяли путем посева на чашки Петри методом последовательных разведений.

Кролики были разделены на 3 равные группы. Животным первой и второй подопытных групп гомогенат гриба в объеме 2 мл (200 млн. КОЕ) и 0,5 мл (50 млн. КОЕ) соответственно вводили внутривенно. Контрольным животным вводили стерильный физиологический раствор.

Опыт на мышах проведен двукратно. Взвесь в дозе 50 млн. КОЕ вводили внутривенно. Контрольным животным вводили стерильный физиологический раствор. Клинические наблюдения за животными вели в течение 21-х суток с момента заражения.

По окончании сроков наблюдения животных усыпляли, проводили патологоанатомические исследования внутренних органов (печень, почки, селезенка, сердце, легкие). Определяли весовые коэффициенты внутренних органов по отношению к массе тела. Проводили посевы из паренхиматозных органов на питательную среду для выделения ретрокультур.

Для исследования токсигенности гриба *Fusarium sambucinum* использован образец сухой биомассы. Исследования проводили на 2-х видах лабораторных животных (белые мыши, белые крысы). Масса белых крыс была в пределах 113-140 г и белых мышей – 20-21 г. Исследуемое вещество в виде взвеси на 0,5 % крахмальном клейстере с помощью иглы-зонда вводили в желудок экспериментальным животным 1-4 раза в течение суток.

За подопытными животными в течение 15 дней вели постоянные клинические наблюдения с регистрацией поведенческих реакций, поедаемости кормов, степенью проявления реакции на внешне раздражители, времени появления признаков интоксикации.

Изучение хронической токсичности экстрактивных форм БАВ из мицелия гриба *Fusarium sambucinum* проводили на белых крысах. В опытах в каждой группе было по 10 животных. Контроль за белыми крысами проводили в течение 60 суток.

В работе применяли спиртовой экстракт БАВ на основе мицелия гриба *Fusarium sambucinum*, который животным 1, 2 и 3 групп вводили соответственно в дозе 0,04 см³/кг, 0,2 см³/кг и 0,4 см³/кг, крысам контрольной группы № 4 выпаивали питьевую воду. Условия содержания, плотность посадки, фронт поения и кормления, параметры микроклимата во всех группах животных одного вида были одинаковыми.

При проведении исследований учитывались следующие показатели: потребление кормов и воды – ежедневным учетом поступления и остатков; сохранность поголовья – ежедневно путем учета падежа и выбраковки; живую массу лабораторных животных – методом индивидуального взвешивания; валовой прирост живой массы животных (по периодам).

После убоя крыс проводили взвешивание внутренних органов животных и рассчитывали их относительную массу. По окончании опыта отбирали кровь от крыс для проведения гематологических и биохимических исследований [1, с. 28-29]. При этом проводили определение содержания гемоглобина и количества эритроцитов в крови; активность ферментов АлАТ и АсАТ, количество общих липидов и холестерина в сыворотке крови; количество общего белка и альбуминов.

Результаты работы. Опыт показал, что после внутрибрюшинного заражения взвесью клеток в дозе 50 млн. клеток гибели среди экспериментальных животных на протяжении всего срока наблюдения не установлено. Клинический статус не имел каких-либо различий между подопытными и контрольными животными. Все мыши после окончания опыта были умертвлены, вскрыты. При патологоанатомическом исследовании установлено, что серозные оболочки грудной и брюшной полостей гладкие, блестящие без каких-либо наложений.

Результаты вскрытия показали: сердце – форма и величина, у животных подопытных групп такие же, как и у контрольных; легкие – по объему, строению долей у подопытных и контрольных животных одинаковые, поверхности легких гладкие, спаек не отмечено; желудок – петли тонкого и толстого кишечника внешне обычные, признаков воспалительных изменений не отмечено. При вскрытии просвета виден не измененный рисунок слизистых (такой же, как и у контрольных животных); печень – обычного размера, темно-красного цвета, среднего кровенаполнения, доли отделены друг от друга, поверхности гладкие; почки – по размерам и форме не отличаются от почек контрольных животных, поверхности гладкие, на разрезе виден четкий рисунок коркового и мозгового вещества; селезенка – не увеличена, обычной консистенции. На разрезе пульпа умеренно полнокровна, темно-красного цвета.

Анализируя показатели физиологического состояния мышей в течение опыта установили, что по приросту живой массы животные опытной и контрольной групп не имеют различий. Достоверных отличий относительной массы печени, сердца, почек и селезенки по отношению к массе тела подопытных и контрольных групп не выявлено. Проведенными посевами из внутренних органов на питательную среду ретрокультуры не выделены.

Мицелий гриба не является патогенным для белых мышей.

Все кролики, которых заражали внутривенно взвесью клеток в дозах 50 и 200 млн. клеток, в течение срока наблюдения были живы, признаков заболевания не установлено. Животные подопытных групп клинически не отличались от контрольных, хорошо потребляли корм и воду, каких-либо расстройств со стороны органов пищеварения не установлено.

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

Колебания температуры тела подопытных животных в период опыта были незначительными и не выходили за пределы физиологических границ. У животных отмечен прирост массы тела, в среднем, от 70 до 200 г (различия недостоверны).

При патвскрытии установлено, что у кроликов подопытных и контрольных групп серозные оболочки грудной и брюшной полостей гладкие. Без каких-либо наложений. Сердце по форме, величине, состоянию эпи- и эндокардов у всех подопытных кроликов отклонений не было.

Печень всех подопытных и контрольных животных темно-красного цвета, с гладкой поверхностью, острыми краями, умеренного кровенаполнения, упругой консистенции. Легкие по внешнему виду и объему одинаковые у подопытных и контрольных кроликов. Почки у всех животных с поверхности гладкие, почечная капсула легко снимается. На разрезе отчетливо выражена граница между корковым и мозговым слоями. В почечных лоханках отсутствуют воспалительные процессы и какие-либо образования.

Результаты определения относительной массы внутренних органов приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Относительная масса внутренних органов (г) кроликов к массе тела (кг) после введения глубинного мицелия гриба *Fusarium sambucinum*

Дозы КОЕ млн.	Весовые коэффициенты г/кг			
	печень	почки	сердце	легкие
50	24,66±2,02	2,62±0,11	2,37±0,18	5,35±0,79
400	24,74±0,19	2,74±0,07	2,38±0,12	4,97±0,36
0	24,31 ±1,42	2,94±0,16	2,25±0,09	4,7±0,19

Результаты исследований по определению весовых коэффициентов свидетельствуют о том, что существенного изменения относительной массы внутренних органов кроликов после заражения взвесью глубинного мицелия гриба *Fusarium sambucinum* не произошло. Проведенными посевами из печени, сердца, почек и легких на питательные среды ретрокультуры не выделены.

Результаты экспериментальных исследований дают основание считать, что заражение взвесью мицелия гриба *Fusarium sambucinum* не вызывает заболевания и гибели экспериментальных животных, патологических изменений и обсеменения паренхиматозных органов. Мицелий гриба *Fusarium sambucinum* не является патогенным для кроликов.

При анализе приростов массы тела белых крыс прослеживается динамика их увеличения в опытных группах. Так прирост крыс за 60 дней опыта в 1-й группе был на 10 % выше по сравнению с контролем, а во 2 и 3-ей группах соответственно на 13 %. Можно сделать вывод, что активные вещества, находящиеся в экстракте обладают ростостимулирующим действием.

После убоя крыс мы провели взвешивание внутренних органов животных и рассчитали их относительную массу. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Относительная масса внутренних органов крыс, г/г * 1000

Показатель	Группа крыс			
	1 опытная	2 опытная	3 опытная	4 контрольная
Сердце	3,4±0,142	3,32±0,079	3,26±0,12	3,51±0,087
Печень	33,69±0,21	31,78±0,88	31,33±1,41	34,6±1,52
Легкие	6,27±0,5	6,23±0,09	6,71±0,19	6,53±0,47

Результаты исследований по определению весовых коэффициентов свидетельствуют о том, что существенного изменения относительной массы внутренних органов крыс после проведения опыта не произошло.

Гематологические и биохимические показатели крови подопытных крыс находились в пределах нормы, и существенно показателями между группами не отличались. Можно отметить снижение уровня холестерина у крыс 1-ой, 2-ой и 3-ей опытных групп соответственно на 21 %, 35 % и 11 %, что свидетельствует об антиоксидантном действии БАВ гриба *Fusarium sambucinum*.

Выводы. 1. Исследованиями по определению патогенности штамма глубинного мицелия гриба на лабораторных животных установлено, что испытанный штамм гриба *Fusarium sambucinum* не является патогенным для лабораторных животных; 2. При назначении экстрактивной формы мицелия гриба *Fusarium sambucinum* белым крысам в дозах 0,04 см³/кг, 0,2 см³/кг и 0,4 см³/кг массы тела клиническое состояние животных не изменялось в течение всего срока исследования; 3. Гриб *Fusarium sambucinum* может быть использован при разработке рецептуры кормовых добавок и препаратов для ветеринарии.

Список литературы

1. Взятие крови у животных: учебно-методическое пособие для студентов по специальности 1 – 74 03 02 «Ветеринарная медицина» / А.П. Курдеко [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2008. – 33 с. 2. Лекарственные препараты и пищевые добавки из макромицетов / А.С. Бухало [и др.] // Успехи медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2005. – Т. 5. – С. 254-256. 3. Производство лечебно-профилактических кормовых добавок-синбиотиков для сельского хозяйства / Г.И. Воробьев [и др.] // Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов: материалы Международной научно-практической конференции, Щелково, 20-21 декабря 2007 г. / Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности; под ред. А.Я. Самуйленко. – Щелково, 2007. – С. 373-376. 4. Филиппова, И.А. Фунготерапия – естественная медицина будущего / И.А. Филиппова, Т.В. Фунтик // Успехи медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2005. – Т. 5. – С. 279-281.

DETERMINATION OF PATHOGENICITY OF *FUSARIUM SAMBUCINUM* MYCELIUM AND CHRONIC TOXICITY OF ITS EXTRACT

*Zaitseva A.V., **Zaitseva V.V., *Dremach G.E.

*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, **Vitebsk State University named after P.M. Masherov, Vitebsk, Belarus

The authors have determined non-pathogenicity of *Fusarium sambucinum* mycelium and its extract causes no chronic chronic toxicity in white rats but shows growth stimulating, hepatoprotective and antioxidant effect.