

# Биомаркеры микотоксинов: ЗА и ПРОТИВ

**Кристина ШВАБ,**  
доктор биологических наук  
*Отдел по контролю рисков, связанных с микотоксинами,*  
*компании «Биомин» (Австрия)*

**Микотоксины – вторичные метаболиты, продуцируемые нитевидными грибами, которыми контаминированы практически все виды зерновых. Известно, что около 95% заражений происходит еще в поле. В 2013 г. во всем мире было взято 4200 проб корма для исследования. Анализ показал, что 81% образцов был загрязнен микотоксинами, несмотря на меры профилактики (Компания «Биомин», 2013). Установлено, что микотоксины не одинаково влияют на здоровье животных разных видов. Вот почему ученые, ветеринарные врачи и производители сельскохозяйственной продукции находятся в постоянном поиске необходимых для диагностики биомаркеров.**

## Использование биомаркеров

Более 30 лет ученые занимаются созданием так называемых биомаркеров, позволяющих определить влияние микотоксинов на здоровье путем измерения одного из важных параметров крови, желчи или других физиологических образцов.

Компания «Биомин» имеет богатый опыт применения биомаркеров для оценки эффективности обезвреживания микотоксинов, что является ключевым условием для регист-

рации деактиваторов микотоксинов в ЕС и официального признания их свойств. Несмотря на то что биомаркеры стали важным и полезным инструментом в научных исследованиях, для их практического применения на фермах необходимо иметь больше информации. Свободный доступ животных к корму обуславливает невозможность определения времени отбора проб. Поскольку все поголовье подвержено риску кормового заражения, нельзя установить «неконтаминированное» значение для биомаркера.

Вследствие высокой концентрации метаболитов, которые появляются в результате распада одного из микотоксинов, и разной степени их токсичности применение биомаркеров в качестве диагностического инструмента возможно только в научных экспериментах. Недостаточная нормативная документация, регламентирующая уровни содержания метаболитов в физиологических образцах, не позволяет интерпретировать результаты.

Для определения микотоксинов в корме давно существуют аккредитованные методы, однако для биомаркеров в ISO-сертифицированных коммерческих лабораториях их практически не используют: методики контроля качества анализов физиологических образцов на микотоксины еще не утверждены. Выявление микотоксинов в кормах — наиболее изученный и надежный метод оценки возможной угрозы. Поэтому и сегодня он остается наиболее популярным.

Мы предлагаем информацию о потенциале и недостатках биомаркеров микотоксинов и об использовании фитогенных кормовых добавок для решения проблемы наличия следов лекарственных препаратов в мясе свиней.

## Потенциал и недостатки

Важная часть эффективного менеджмента — регулярное проведение анализов на наличие микотоксинов в кормовом сырье. Известно, что потребление животными контаминированного корма приводит к тому, что микотоксины, попадая в организм, оказывают разрушительное действие. Более 30 лет ученые разрабатывают так называемые биомаркеры, позволяющие определять влияние микотоксинов на здоровье путем измерения одного из важных параметров в образцах крови, желчи или других физиологических пробах. Каковы же потенциал и недостатки биомаркеров?

## Биомаркеры воздействия

Важно различать биомаркеры воздействия и биомаркеры эффекта. Биомаркеры воздействия — это микотоксин или его метаболиты, например афлатоксин М1 (АфМ1), в

**Биомаркеры воздействия и биомаркеры эффекта  
для основных микотоксинов**

| Микотоксин             | Биомаркер   |  |
|------------------------|---|--|
|                        | воздействия   | эффекта  |
| Афлатоксин В1(АфВ1)    | АфВ1 в молоке   | <ul style="list-style-type: none"> <li>АфВ1-альбумин аддукты в крови</li> <li>АфВ1-ДНК аддукты в моче, ткани</li> </ul>                |
| Фумонизин В1(ФВ1)      | ФВ1 в крови, моче, фекалиях   | Сфинганин/сфингозин (Sa/So) отношение в крови, ткани   |
| Дезоксиниваленон (ДОН) | ДОН, ДОМ-1 и другие метаболиты в моче, тканях, фекалиях                 | Цитокины воспаления в крови, тканях  |
| Зеараленон(ЗЕН)        | ЗЕН, зеараленон, зеараланол и другие метаболиты в крови, моче, фекалиях | <ul style="list-style-type: none"> <li>Конъюгаты глюкуроновой кислоты в моче, фекалиях</li> <li>Эндокринный распад в тканях</li> </ul> |
| Охратоксин А(ОТА)      | ОТА и его метаболиты в крови, моче, ткани (почки)                       | ОТА-ДНК аддукты в ткани  |

Источник: «Биомин» (адаптировано из Baldwin et al., 2011)

крови, молоке, моче, фекалиях или других физиологических пробах (таблица). В небольшом количестве микотоксины можно обнаружить в физиологических пробах в неизменной форме, в то время как остальные метаболизируются.

Ученые определили, что в зависимости от молочной продуктивности и других факторов от 1 до 6% попавшего в организм коровы АфВ1 можно обнаружить в молоке в форме АфМ1 (гидроксилированный метаболит). По приблизительным данным, 0,05 мкл/м<sup>3</sup> афлатоксина М1 коррелирует в комбикорме с 0,8–5 мкл/м<sup>3</sup> афлатоксина В1 (по стандартам ЕС максимально допустимый уровень контаминации комбикорма в молочном скотоводстве — 5 мкл/м<sup>3</sup>).

Чтобы предотвратить опасность поступления на рынок загрязненного афлатоксином молока, специалисты рекомендуют проводить анализ корма на наличие микотоксинов.

### Биомаркеры эффекта

Биомаркеры эффекта, называемые также биомаркерами механизма, по мнению экспертов, напрямую связаны со специфическим этапом при нарушении обменных или клеточных процессов. Например, первая стадия развития отека легких у свиней — это нарушение метаболизма сфинголипидов фумонизином В1 (ФВ1). Такая структура ингибирует синтез керамида, что приводит к повышению соотношения сфинганина к сфингозину (Sa/So). Эта пропорция — научно узнаваемый биомаркер эффекта для фумонизинов (ФУМ) в организме свиней, но не человека.

### Практические трудности

В случае с ФУМ соотношение Sa/So используют только в научных экспериментах, а не на фермах, так как в условиях комплексов сложно обеспечить контролируемое кормление животных, а недостаток неконтаминированных групп делает невозможным определение порогового значения биомаркера.

К тому же для того, чтобы биомаркеры имели практическое значение, должна существовать линейная корреляция между воздействием и потреблением микотоксинов. В некоторых опубликованных научных работах указано, что линейные соотношения можно выявить для дезоксиниваленола (ДОН) и его метаболитов, измеренных в крови или моче свиней.

Однако существуют ограничения. Отклонения в концентрациях микотоксинов, обнаруженных в физиологических пробах, не позволяют сделать вывод о количестве потребленных микотоксинов и их влиянии на здоровье животных. Это одна из причин отсутствия утвержденных уровней критических концентраций ДОН или других микотоксинов в крови и прочих физиологических пробах, вследствие чего невозможно интерпретировать результаты анализов.

Ситуация осложняется и тем, что репрезентативное исследование базируется на точном времени отбора проб: наивысшую концентрацию ДОН и его метаболитов в крови фиксируют спустя два часа после поступления их в организм. Затем происходит быстрое разрушение микотоксина. Зеараленону (ЗЕН) для распада требуется больше времени вследствие энтерогепатической циркуляции (всасывание в кровь — выделение с желчью — реабсорбция в кровь).

Так как на фермах зачастую практикуют свободный доступ животных к корму, нельзя определить время отбора проб. Вот почему полученные результаты не репрезентативны.

### ПОЧЕМУ НЕ ИФА?

Несмотря на то что иммуноферментный анализ (ИФА) — быстрый и недорогой метод, в соответствии с действующими стандартами его можно применять только для исследования кормового сырья. Для анализа физиологических образцов он не подходит.

В двух лабораториях проводили анализ сыворотки крови и молока коров на наличие ДОН. В первой лаборатории при помощи ИФА установили концентрацию этого микотоксина в пределах 69,5–117,5 мг/л. Значения, полученные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) во второй лаборатории, были ниже предела обнаружения. Это означает, что результаты ИФА ложноположительные, поскольку такой метод не подходит для исследования комплексных материалов — корма, молока или крови — на наличие микотоксинов (таблица).

### Результаты ИФА и ВЭЖХ физиологических образцов

| Показатель        | ДОН        |           |
|-------------------|------------|-----------|
|                   | ИФА*       | ВЭЖХ**    |
| Лактационный корм | <134 мг/кг | 77 мг/кг  |
| Молоко (свинья)   | 75 мг/л    | <0,5 мг/л |
| Сыворотка крови:  |            |           |
| у свиньи          | 117,5 мг/л | <2 мг/л   |
| у поросенка       | 69,5 мг/л  | <2 мг/л   |

\* BioCheck GmbH, Лейпциг, Германия

\*\* S. Dänicke (Федеральный сельскохозяйственный исследовательский центр, Институт питания животных, Брауншвейг), Германия

Другим важным аспектом считают тот факт, что ДОН, как и другие микотоксины, трансформируется в ДОН-глюкоронид, ДОМ-1, а также в неизвестные метаболиты. Пропорция зависит от вида животного, цикла его жизни, микрофлоры кишечника и состояния здоровья. При этом токсичность метаболитов ДОН может отличаться от такого же показателя исходной структуры: например, ДОМ-1 нетоксичен. ЗЕН обнаруживаются в физиологических образцах в виде  $\alpha$ - и  $\beta$ -зеараленола и их глюкуроновых форм. Трансформированный в  $\alpha$ -зеараленол ЗЕН обладает сильным эстрогенным эффектом. Именно поэтому проведение анализа на выявление только одного из микотоксинов считают недостаточным.

### Исследование биомаркеров

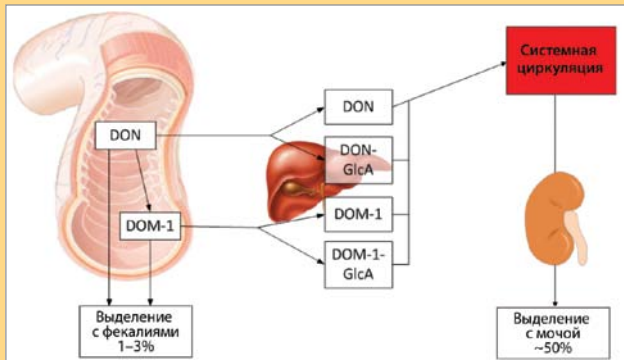
Тенденция последних лет — разработка высокоизбирательных и достаточно чувствительных методов, основанных на жидкостной хромато-масс-спектрометрии/масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС), для определения микотоксинов в очень низких концентрациях. ЖХ-МС/МС позволяет выявить несколько метаболитов одновременно.

Иммуноферментный анализ (ИФА), по мнению экспертов, лишь грубый скрининговый способ диагностики, так как на результаты влияют матричные эффекты, обусловленные жидкостями организма. Антитела, используемые в ИФА-тестах для подсчета микотоксинов, обладают широкой перекрестной реакционной способностью по отношению к родственным метаболитам. Например, с помощью большинства ИФА-

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПУТЬ ДОН В ОРГАНИЗМЕ СВИНЕЙ**

В зависимости от микрофлоры кишечника животных потребленный с кормами ДОН трансформируется в нетоксичный ДОМ-1. В дальнейшем ДОН и ДОМ-1 частично абсорбируются в кровяное русло и в печени превращаются в ДОН-1-глюкоронид (ДОН-GlcA) и ДОМ-1-глюкоронид (ДОМ-1-GlcA).

После системной циркуляции метаболиты выводятся с мочой (30–93% потребленного ДОН). В фекалиях обнаруживают лишь 1–3%. Оставшаяся часть — это неизвестные метаболиты и распадающийся ДОН (рисунок).



Для подсчета концентрации ДОН в физиологических образцах необходимо проанализировать все метаболиты, однако это невозможно сделать в практических условиях.

наборов для ЗЕН также определяют  $\alpha$ -зеараленол, однако различить метаболиты, используя этот метод, невозможно. К сожалению, в руководствах для пользователей производители иногда не предоставляют точной информации о перекрестной реакционной способности различных видов метаболитов.

Сегодня животноводы активно используют стандартизированные приемы, позволяющие определять микотоксины в корме. Для биомаркеров же такие методы практически отсутствуют: методики контроля качества и анализа физиологических проб на микотоксины для коммерческих лабораторий находятся на стадии разработки.

Биомаркеры — доступный инструмент в научных исследованиях, тем не менее перед их применением на фермах необходимо иметь как можно больше информации о факторах, влияющих на биологическую активность, кинетику и метаболизм микотоксинов в организме животных. Сегодня еще не существует линейной корреляции для биомаркеров. Важную роль играют использование контрольных групп и тщательный отбор проб, однако стоимость процедуры при этом существенно возрастает.

Определение микотоксинов в корме — качественно разработанный, надежный подход для выявления возможной угрозы. Вот почему такой метод считают наиболее предпочтительным. **ЖР**

ООО «Биомин»  
109428, Москва,  
Рязанский пр-т, д. 24, корп. 2  
Тел.: (495) 514-09-06  
Факс: (495) 514-09-07

Журнал **Животноводство России** —

**ПРАВИЛЬНЫЙ  
ВЫБОР!**

**Подписка  
с любого месяца  
по каталогу  
Роспечати  
Индексы  
79767, 80705**

**Тел./факс:  
(499) 250-89-31,  
251-69-73**

**E-mail: animal@zsr.ru  
www.zsr.ru**

