**LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS**

**VETERINARIJOS AKADEMIJA**

**VETERINARIJOS FAKULTETAS**

**UŽKREČIAMŲJŲ LIGŲ KATEDRA**

**MARIJA TARVYDAITĖ**

**MIKOTOKSINŲ ADSORBENTO „ESCENT“ POVEIKIS BROILERIŲ DVYLIKAPIRŠTĖS ŽARNOS GLEIVINEI IR KRAUJO BIOCHEMINIAMS RODIKLIAMS**

**MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS**

Darbo vadovas: doc. dr. Alius Pockevičius

**KAUNAS**

**2013**

PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ

Patvirtinu, kad įteikiamas magistro baigiamasis darbas „Mikotoksinų absorbento „Escent“ poveikis broilerių dvylikapirštės žarnos gleivinei ir kraujo biocheminiams rodikliams“ yra atliktas mano pačios

1. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje.

2. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą panaudotos literatūros sąrašą.

2013 01 Marija Tarvydaitė

PATVIRTINIMAS APIE ATSAKOMYBĘ UŽ LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ ATLIKTAME DARBE

Patvirtinu lietuvių kalbos taisyklingumą atliktame darbe.

2013 01 Marija Tarvydaitė

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADOS DĖL DARBO GYNIMO

................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

2013 01 doc. dr. Alius Pockevičius

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS KATEDROJE

............................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

2013 01 Užkrečiamųjų ligų katedros vedėjas prof. Saulius Petkevičius

Magistro baigiamasis darbas yra įdėtas į ETD IS

Magistro baigiamojo darbo recenzentas

# TURINYS

[TURINYS 3](#_Toc347053428)

[SANTRUMPOS 4](#_Toc347053429)

[ĮVADAS 5](#_Toc347053430)

[1. LITERATŪROS APŽVALGA 6](#_Toc347053431)

[1.1 Mikotoksinų istorija 6](#_Toc347053432)

[1.2 Mikotoksinų grupės ir jų charakteristika 7](#_Toc347053433)

[1.3 Didžiausios leistinos mikotoksinų koncentracijos grūduose ir maisto produktuose 10](#_Toc347053434)

[1.4 Mikotoksinų nustatymas 11](#_Toc347053435)

[1.5 Mikotoksinų detoksikavimas 12](#_Toc347053436)

[1.5.1 Komerciniai detoksikuojantys preparatai 13](#_Toc347053437)

[1.6 Paukščių virškinimo sistemos ypatumai 15](#_Toc347053438)

[2. TYRIMO OBJEKTAS IR TYRIMO METODAI 18](#_Toc347053439)

[2.1. Histomorfometrinis tyrimas 19](#_Toc347053440)

[2.2 Mikotoksinų adsorbento „Escent“ charakteristika 21](#_Toc347053441)

[2.3. Biocheminių kraujo rodiklių nustatymas 22](#_Toc347053442)

[3. TYRIMO REZULTATAI 24](#_Toc347053443)

[3.1 Mikotoksinų adsorbento „Escent“ įtaka broilerių dvylikapirštės žarnos gaurelių ilgiui ir kriptų gyliui 24](#_Toc347053444)

[3.2 Kraujo biocheminių rodiklių tyrimas 25](#_Toc347053445)

[4. TYRIMŲ REZULTATŲ APTARIMAS 28](#_Toc347053446)

[5. IŠVADOS 31](#_Toc347053447)

[6. SUMMARY 32](#_Toc347053448)

[LITERATŪROS SĄRAŠAS 33](#_Toc347053449)

[Priedai 38](#_Toc347053450)

# SANTRUMPOS

|  |  |
| --- | --- |
| **ES –** | Europos Sąjunga |
| **Escent –** | mikotoksinų adsorbentas |
| **DON –** | deoksinivalenolis |
| **ZON** – | zearalenonas |
| **ppm –** | milijoninė dalis (part per million mg kg-1) |
| **TCL –** | plonasluoksnė chromatografija |
| **HPLC –** | aukšto slėgio skysčių chromatografijos testas |
| **GGT –** | gama-gliutamiltranspeptidazė |
| **HBG –** | hemoglobinas |
| **AST –** | aspartataminotransferazė |
| **BUN –** | kraujo šlapalo azotas |
| **RBC –** | raudonieji kraujo kūneliai (eritrocitai) |
| **DNR –** | deoksiribonukleino rūgštis |
| **RNR –** | ribonukleino rūgštis |

# ĮVADAS

Pastaraisiais metais pastebimai keičiasi vartotojų požiūris į paukštininkystės produktų – kiaušinių ir mėsos – kokybę. Vis daugiau vartotojų pageidauja natūraliomis sąlygomis išaugintų paukščių mėsos ir kiaušinių, pasisako prieš augimo stimuliatorių naudojimą paukščių racionuose. Visa tai lemia kintančias paukščių laikymo ir lesinimo tradicijas. Mokslininkai, paukštininkystės specialistai nuolat ieško būdų, kaip natūraliomis priemonėmis pagerinti paukščių gyvenimo kokybę, paspartinti jų augimą, nedarant poveikio skerdenos kokybei bei vartotojų sveikatai (Juknevičius ir kt., 2007).

Paukščių sveikatai įtakos turi daugelis veiksnių. Svarbiausi jų – pašarai, laikymo sąlygos ir priežiūra. Kad paukščiai normaliai augtų, vystytųsi ir būtų produktyvūs, lesalai turi būti visaverčiai. Ne mažiau kaip 65 proc. paukščių lesalų turi sudaryti grūdai, likusią dalį – kuo įvairesnis pašaras (šienas, šiaudai, pašariniai runkeliai, žolė).

Pastaruoju metu vis didesnis dėmesys skiriamas mikroorganizmų pakenktiems grūdams ir pašarams produkto užkrėtimo mikotoksinais. Mikroskopiniai grybai gali atsirasti ant grūdų dar lauke arba saugojimo metu, kai pakyla temperatūra, padidėja drėgnumas ir susidaro palankios sąlygos jiems augti. Naudojant užkrėstus pašarus pasireiškia bendrieji intoksikacijos požymiai: apetito sumažėjimas, augimo ir reprodukciniai sutrikimai (Bakutis, 2004).

Gyvūnų pašarų užteršimas mikotoksinais yra didelė ūkininkų problema visame pasaulyje. Pašarai, užkrėsti mikotoksinais, sukelia sunkias ligas, kančias, mirtį ir didelius ekonominius nuostolius. Šiomis dienomis dažniausiai taikomas metodas mikotoksinų poveikiui sumažinti – absorbentai (mikotoksinų surišikliai). Jie sumaišomi su pašaru arba kaip profilaktinė priemonė dedami į vandenį, kurį geria paukščiai. Adsorbentai sumažina kenksmingų medžiagų absorbciją iš virškinimo trakto arba skaldo jas į mažiau kenksmingus junginius (Huwig et al., 2001). Su mikotoksinų adsorbentais įvertinant galimą poveikį virškinimo sitemai ar kraujo serumo rodikliams Lietuvoje darbų atliekama nedaug, todėl mūsų **darbo tikslas** - nustatyti mikotoksinų adsorbento „Escent“ poveikį broilerių dvylikapirštės žarnos gleivinei ir kraujo biocheminiams tyrimams.

**Darbo uždaviniai:**

1. Įvertinti adsorbento poveikį žarnų gleivinei atliekant histomorfometrinius tyrimus.
2. Įvertinti adsorbento poveikį kraujo biocheminiams rodikliams.

**LITERATŪROS APŽVALGA**

# Mikotoksinų istorija

Terminas mikotoksinai yra kilęs iš graikų kalbos žodžių *myces* - grybas ir *toxicon* - nuodai. Mikotoksinai yra mikroskopinių grybų antriniai metabolitai, kurie užteršia pašarus ir pašarines žaliavas (Li et al., 2005; Awad et al., 2008). Yra žinoma daug skirtingų genčių ir rūšių mikroskopinių grybų, kurie produkuoja toksinius junginius, nuodingus visai gyvūnijai ir žmonėms. Nėra tiksliai žinoma, kodėl mikroskopiniai grybai gamina toksines medžiagas – ar tai yra jų šalutiniai produktai, ar apsauginės priemonės nuo kitų mikroorganizmų (http://www.manoukis.lt/, 2011).Priskaičiuojama apie 250 000 mikroskopinių grybų rūšių, paplitusių aplinkoje.

Istoriniai šaltiniai byloja, kad viduramžiais nuo apsinuodijimo mikroorganizmais, augalų išskiriamomis medžiagomis mirdavo šimtai tūkstančių žmonių. Pirmoji atpažinta ir aprašyta mikotoksikozė buvo ergotizmas, kurį sukelia skalsių alkaloidai. Susirgimas charakterizuojamas kaip nekrozinis, sukeliantis gangreną. Masinis šios ligos protrūkis aprašytas 934 metais Limože (Prancūzija). Kronikose rašoma, kad žmonės krito tiesiog gatvėse. *Fusarium* genties grybai, kaip nežinomos ligos sukėlėjai, taip pat aprašomi viduramžiais (Bakutis, 2004).

Kita aprašyta masinė mikotoksikozė, pasireiškusi aktyviau negu ergotizmas, buvo alimentinė toksinė aleukija. Aprašyti šie simptomai: leukopenija, burnos ertmės, ryklės ir žarnyno pažeidimai, sepsis, hemoraginė diatezė, pakitimai kaulų čiulpuose. Masinis šio susirgimo pasireiškimas užfiksuotas Rusijoje antrojo pasaulinio karo metais, vartojant supelijusius grūdus. Apie 60 proc. susirgusiųjų mirdavo. Nustatyta, kad pagrindiniai ligos sukėlėjai buvo *Fusarium sporotrichoides*, *Fusarium poae* ir *Cladosporium epiphyllum* (Bakutis, 2004).

Japonijoje po antrojo pasaulinio karo intoksikaciją sukėlė supeliję geltonos spalvos ryžiai. Pastebėta, kad valgant „geltonuosius ryžius“ žmones ištikdavo vėmimo ir traukulių priepuoliai, vėliau – paralyžius. Toksinius pokyčius sukėlė *Penicillium* genties mikromicetų gaminami toksinai (Bakutis, 2004).

Iki šio amžiaus šeštojo dešimtmečio buvo ir daugiau mikotoksikozių pasireiškimo atvejų, dažnai priskiriamų neaiškios kilmės susirgimams. Požiūris į šią problemą pasikeitė prasidėjus „kalakutų x susirgimui“ Didžiojoje Britanijoje, kai per keletą mėnesių nugaišo daugiau kaip 100 tūkstančių kalakutų ir ančiukų. Buvo pradėta ieškoti ryšio tarp ligos sukėlėjo ir padarinių. Iki tol mikotoksikozės buvo laikomos neaiškios etiologijos infekcinėmis arba medžiagų apykaitos ligomis. Kalti buvo žemės riešutų miltai, kuriuos vartojo kaip baltymų šaltinį, atvežtą į Angliją iš Brazilijos. Iš jų išskirti *Aspergillus flavus* mikromicetai ir įrodyta, kad kalakučiukų ir ančiukų gaišimo priežastys buvo mikotoksikozė, vėliau pavadinta aflatoksikoze (Bakutis, 2004).

Užterštų mikotoksinais pašarų vartojimas gali sukelti ūmų ir ilgalaikį chronišką teratogeninį, kancerogeninį, estrogeninį arba imunosupresinį poveikį ne tik gyvūnams, bet taip pat ir žmogui. Gyvūnai paprastai kenčia labiau dėl prastesnės kokybės grūdų (D'Mello et al., 1999; Steyn, Stander, 1999; Casteel, Rottinghouse, 2000).

Tyrinėjant aflatoksikozes, nustatyta daugelis kitų mikotoksikozių sukėlėjų (Bakutis, 2004).

# Mikotoksinų grupės ir jų charakteristika

Šiuo metu mokslui yra žinoma apie 400 įvairios cheminės sudėties antrinių metabolitų –mikotoksinų. Žemės ūkio produktuose gali daugintis skirtingų rūšių grybeliai, kurie skirstomi į dvi pagrindines grupes: lauko ir sandėlių. Lauko grybelių grupei priskiriami *Fusarium* genties pelėsiniai grybeliai, kurie išskiria mikotoksinus: zearalenoną ir DON (vomitoksiną), o sandėlių – *Aspergillus* ir *Penicillium*, gaminantys mikotoksinus Ochra ir Afla. Pastebėta, kad sėjant į šaltą dirvą ar ne laiku, javai labiau pažeidžiami. Netinkamas grūdų sandėliavimas sudaro geresnes sąlygas pelėsiniams grybeliams tarpti. Sandėlio grybelių mikotoksinai prisigamina tuomet, kai grūdai kuliami drėgnu oru, nevisiškai subrendę arba neišdžiovinti supilami į netinkamai paruoštus be aktyvios ventiliacijos sandėlius. Pelėsiniai grybeliai geriausiai dauginasi ir auga 12 proc. ir didesnio drėgnio grūduose, kuomet aplinkos santykinė drėgmė siekia 80 - 90 proc., o temperatūra 10 – 420C. Mikotoksinai yra suskirstyti į grupes pagal grybų rūšis, struktūrą bei veikimo būdą (1 lentelė). Pagrindinės mikotoksinų klasės: aflatoksinai, ochratoksinai, fuzariotoksinai (trichotecenai, zearalenonas, fumonizinas) ir skalsių alkaloidai (Eaton et al., 1994).

1 lentelė. **Svarbiausios mikotoksinų grupės ir jų producentai** (Bakutis, 2004)

| Mikotoksinai | Pagrindiniai producentai |
| --- | --- |
| **Aflatoksinai** | *Aspergillus flavus* |
| (B1, B2, G1, G2, M1, M2) | *Aspergillus parasiticus* |
| **Ochratoksinai** | *Penicillium verrucosum* |
| (A, B, C, D) | *Aspergillus ochraceus* |
| **Fuzariotoksinai** | *Fusarium sporotrichoides* |
| Trichotecenai | *F. poae, F. avenaceum* |
| Zearelenonas | *F. equiseti, F. moniliforme* |
| Fuzarinai | *F. roseum, F. gramnearum ir kt.,* |
| Fumozinai | *F. moliforme* |
| Butenolidai |  |

*Aspergillus flavus* ir *Aspergilius parasiticus* mikroskopiniai grybai gamina aflatoksinus. Ši mikotoksinų grupė geriausiai ištirta ( Asao et al., 1964).

Žinomi keturi pagrindiniai aflatoksinai – B1, B2, G1 ir G2 bei du metaboliniai produktai M1 ir M2. Aflatoksinas B1 yra žinomas, kaip kancerogeninė medžiaga, sukelianti kepenų vėžį ir veikianti genotoksiškai. Jie paplitęs šalyse, kur drėgnas ir karštas klimatas, nes ten sąlygos vystytis pelėsiams laikomuose produktuose labai tinkamos. Aflatoksinai yra heterocikliniai junginiai, kurie pasižymi fluorescuojančiomis savybėmis(Wood, 1992). Aflatoksinų poveikis gyvūnams nevienodas: jautriausios yra kiaulės, triušiai, ančiukai ir upėtakiai, mažiau jautrios pelės, žiurkės ir vištos (Bakutis, 2004).

Ochratoksinai yra gaminami iš *Penicillium* genties mikroskopinių grybų. Iki šiol geriausiai yra ištirta ochratoksinai A, B, C ir D. Pavojingiausias ochratoksinas A. Jis pasižymi nefrotoksišku, hepatotoksišku, kancerogeniniu, teratogeniniu ir imunosupresyviniu veikimu. Ochratoksiną A gali išskirti ne tik *Penicillium* mikromicetai, bet ir *Aspergillus ochraceus* (Bennett, Klich, 2003). Šiems toksinams jautriausios yra kiaulės (Bakutis, 2004). Ochratoksinų toksinis efektas pasireiškia poveikiu kepenims, inkstams, imuninės sistemos susilpnėjimu, alerginėmis reakcijomis (Mankevičienė, 2007).

Grūduose, užaugintuose Centrinėje Europoje, dažniausiai vyrauja fuzariotoksinai, gaminami *Fusarium* genties grybų, kurie apima šias toksinų metobolitų grupes:

* trichotecenus;
* zearelenoną;
* fuzarinus;
* fumonizinus;
* butenolidus.

Trichotecenai kenkia kaulų čiulpams, limfmazgiams, blužnies, užkrūčio ir žarnyno gleivinei, turi įtakos sumažėjusiai leukocitų cirkuliacijai (Pestka et al., 2004).

Paukštininkystei rimtą problemą kelia DON ir T-2, kurie randami grūduose prieš derliaus nuėmimą. DON toksinis veikimo būdas yra baltymų sintezės slopinimas, tai turi įtakos greitai besidalijančioms ląstelėms, pavyzdžiui, virškinimo trakto ir imuninės sistemos (Wylhe et al., 1997). DON absorbuojamas per žarnyno epitelį paprastosios difuzijos būdu ir slopina žarnyno ląstelių proliferaciją (Sergent et al., 2006).

Naminiams paukščiams DON sutrikdo žarnyno gliukozės ir amino rūgščių apykaitą ir sumažina dvylikapirštės žarnos gaurelių aukštį ir plotį (Awad et al., 2006; 2008). Žinoma, kad naminiai paukščiai yra atsparesni DON lyginant su kiaulėmis, tačiau jautresni už atrajojančius gyvūnus (Awad et al., 2004). Mikotoksinai, daugiausia DON, sumažina B limfocitų ir T-ląstelių skaičių (Chowdhury et al., 2005).

T-2 toksinas, patekęs į gyvūno organizmą, labai greitai transformuojamas. Jis metabolizuojamas žarnų epitelyje, susidaro šio mikotoksino metabolitai. Jie išsiskiria tuo, kad pradedami detoksikuoti dar nepasiekę kepenų. Vėliau T-2 yra detoksikuojamas kepenyse, kur susijungia su gliukuronine rūgštimi ir pašalinamas su tulžimi bei šlapimu.

T- 2 slopina proteinų sintezę, DNR ir RNR sintezę, lipidų peroksidaciją, didina interleukinų gamybą makrofaguose ir leukocituose (Bakutis, 2004).

Mikotoksinų poveikis gyvūnams priklauso nuo pelėsinių grybelių rūšies, jų kiekio, užkrėstų pašarų vartojimo trukmės, gyvūno rūšies ir sveikatos būklės. Mikotoksinais užterštų pašarų vartojimas gali sutrikdyti imunitetą ir susilpninti atparumą infekcinėms ligoms (Li et al., 2005; Awad et al., 2008). Be to, kelių nors ir mažo toksiškumo mikotoksinų derinys gali būti nuodingesnis negu didelis vieno iš jų kiekis (Bagdonavičius, 2003). Problema yra lėtinės mikotoksikozės, kurios pasireiškia nespecifiniais požymiais ir padaro didelių ekonominių nuostolių gyvulininkystėje.

Mikotoksinai, esantys maisto produktuose ir pašaruose, gali pažeisti vidaus organus (centrinės nervų sistemos, širdies ir kraujagyslių, kvėpavimo ir virškinamojo trakto) ir būti tiek ūmių, tiek lėtinių intoksikacijų bei mirties priežastimi. Jų poveikis įvairioms žinduolių rūšims toksiškas (gali sukelti alergijas, skrandžio ir žarnų gleivinės pažeidimus, nevaisingumą, centrinės nervų sistemos pažeidimus, turi kancerogeninio poveikio ir kt.). Skirtingos geografinės kilmės žaliavose ir pašaruose gali būti aptinkami skirtingi mikotoksinai (2 lentelė). Mūsų šalyje tiriami tik probleminiai atvejai (Stuogė, 2012).

2 lentelė. **Mikotoksinai skirtingos geografinės kilmės žaliavose** (*http://agroakademija.lt/*, 2012)

| **Kilmės vieta** | **Mikotoksinai** |
| --- | --- |
| Europa | OTA, DON, ZEN, T-2 |
| Šiaurės Amerika | OTA, DON, ZEN, Aflatoksinai |
| Pietų Amerika | Aflatoksinai, Fumozinai, OTA, DON, T-2 |
| Afrika | Aflatoksinai, Fumozinai, ZEN |
| Azija | Aflatoksinai, ZEN, DON |
| Australija | Aflatoksinai, Fumozinai |

## 

# 1.3 Didžiausios leistinos mikotoksinų koncentracijos grūduose ir maisto produktuose

Europos Sąjungoje (ES) siekiant apsaugoti visuomenės sveikatąnustatytos leistinos mikotoksinų koncentracijos (3 lentelė) (prieiga per internetą).

3 lentelė**. Didžiausios leistinos mikotoksinų koncentracijos grūduose ir iš jų pagamintuose maisto produktuose** (pagal ES Komisijos Reglamentą (EB) Nr. 1881/2006)

| Maisto produktai | Didžiausia leistina koncentracija, µg kg-1 | | |
| --- | --- | --- | --- |
| **Aflatoksinai** | B1 | B1, B2, G1, G2  Suma | M1 |
| Visi grūdai ir visi grūdų išvestiniai produktai, įskaitant perdirbtus grūdų produktus | 2,0 | 4,0 | - |
| **Ochratoksinas A** |  | | |
| Neperdirbti grūdai | 5,0 | | |
| Visi neperdirbtų grūdų produktai, įskaitant perdirbtus grūdų produktus ir grūdus, skirtus tiesiogiai žmonėms vartoti | 3,0 | | |
| **Deoksinivalenolis** |  | | |
| Neperdirbti grūdai, išskyrus kietuosius kviečius, avižas ir kukurūzus | 1250 | | |
| Neperdirbti kietieji kviečiai ir avižos | 1750 | | |
| Grūdai, skirti tiesiogiai žmonėms vartoti, grūdų miltai (įskaitant kukurūzų miltus, kukurūzų kruopas ir kukurūzų rupinius), sėlenos, parduodamos tiesiogiai žmonėms vartoti, ir gemalai | 750 | | |
| Makaronai (sausi) | 750 | | |
| Duona (įskaitant mažus kepyklos gaminius), pyragaičiai, sausainiai, javainių užkandžiai ir javainiai | 500 | | |
| **Zearalenonas** |  | | |
| Neperdirbti grūdai, išskyrus kukurūzus | 100 | | |
| Grūdai, skirti tiesiogiai žmonėms vartoti, grūdų miltai, sėlenos, kaip galutinis produktas, parduodamas tiesiogiai, ir gemalai | 75 | | |
| Duona (įskaitant mažus kepyklos gaminius) pyragaičiai, sausainiai, javainių užkandžiai ir javainiai | 50 | | |

# 

# Mikotoksinų nustatymas

Mikotoksinų tyrimams naudojami įvairūs analitiniai metodai: imunoanalizė, imunocheminė analizė, plonasluoksnė ir skysčių chromatografija. Metodai tobulinami, ieškoma optimalių mėginio ekstrakcijos ir valymo sąlygų.

Mikotoksinų analizė maisto produktuose, pašaruose ir grūduose susideda iš penkių pagrindinių etapų:

1. Mėginio atrinkimo;
2. Paruošimo;
3. Ekstrakcijos;
4. Valymo;
5. Toksinų kiekio nustatymo (Whitaker et al., 2000).

Nustatant mikotoksinų kiekį grūduose būtina paimti mėginį pagal aiškiai apibrėžtą atrinkimo planą. Nuo paėmimo priklauso analizės rezultatai. Svarbu pirmam mėginiui pasirinkti kiek galima daugiau taškų. Mėginio dydis neturi reikšmės (Bakutis, 2004).

Vienas iš mikotoksinų nustatymo metodų yra imunofermentinė analizė. Šis metodas mikotoksinams nustatyti naudojamas daugiau kaip dešimtmetį. Ši technologija yra grindžiama specifinio antikūno gebėjimu atskirti specifinio mikotoksino trimatę struktūrą (Zheng et al., 2005; Park et al., 1996).

Plonasluoksnė chromatografija (TLC), kitaip dar vadinamas šoninio srauto bandymas, buvo pirmas analitinis metodas, taikomas atskiriems trichotecenams javuose nustatyti (Fernandez et al., 1994). Testas yra patogus, greitas, stabilus įvairioms klimato sąlygoms.Tačiau technologija gali suteikti tik pusiau kiekybinius rezultatus, tiksli mikotoksinų koncentracija turi būti patvirtina pamatiniu metodu (HPLC). Aukšto slėgio skysčių chromatografijos testas (HPLC) su UV detekcija. Jis naudojamas B tipo trichotecenų nustatymui javų mėginiuose, net jei nustatymo ribos yra žymiai aukštesnės (Zheng et al., 2005). A trichotecenų nustatymui netinkama UV detekcija, kadangi ši grupė parodoma tik absorbcijos pabaigoje. HPLC metodas turi tam tikrų trūkumų:analizė sudėtinga ir trunka ilgai, naudojami toksiški reagentai, reikia didelių investicijų (Berger et al., 1999).

# Mikotoksinų detoksikavimas

Mikotoksinais užteršti pašarai gyvulių augintojams daro didelius ekonominius nuostolius. Svarbiausias uždavinys ūkiuose – detoksikuoti mikroskopiniais grybais ir jų toksinais užterštus pašarus. Detoksikuojant pašarus būtina:

1. Suardyti, inaktyvuoti arba pašalinti mikotoksinus.
2. Panaudojus chemines (ir fizikines) priemones reikia neleisti susidaryti naujiems toksiškiems junginiams.
3. Detoksikuoti, kad nenukentėtų pašaro vertė.
4. Kuo daugiau sunaikinti sporų ir grybų micelio ir sustabdyti galimybę atsinaujinti mikotoksinų produkavimui.
5. Parinkti lengvai įterpiamas, nebrangias ir nekenksmingas aplinkai detoksikavimo priemones (Bakutis 2004).

Pagrindinės profilaktinės priemonės yra apsaugoti javus nuo užkrėtimo mikromicetų gentimis. Būtina taikyti tinkamas sėjomainas, laiku naudoti fungicidus, trąšas, genetiškai atsparias javų veisles. Nuėmus derlių, būtina užtikrinti greitą ir kokybišką grūdų išdžiovinimą bei tinkamas sandėliavimo sąlygas (Bakutis, 2004)

Grūdai į saugyklas patenka drėgnoki, užteršti piktžolių sėklomis. Jie pradeda kaisti, susidaro sąlygos mikroskopiniams grybams augti ir mikotoksinams produkuoti. Kad taip neatsitiktų, reikia grūdus kuo greičiau išvalyti, išdžiovinti, konservuoti. Dažniausiai naudojami du konservavimo būdai:

1. Fizikinis – grūdai greitai išdžiovinami iki 12 – 13 proc.
2. Cheminis – grūdai apdorojami fungistatiniais preparatais.

Labiausiai paplitęs fizinis grūdų konservavimo būdas, tačiau jis susijęs su nemažomis energetinėmis išlaidomis. Efektyviausia grūdus džiovinti sausu pašildytu oru džiovyklose (Bakutis, 2004) ar aktyviąja ventiliacija iki 13–14 proc. drėgmės (Raila ir kt., 2006).

Džiovinant tiekiamos šilumos dėka sukurtas drėgmės gradientas tarp grūdo paviršiaus ir jo vidinių sluoksnių lemia migracija pačiame grūde (Kučinskas, 1999).

Cheminis grūdų konservavimas, tai gyvųjų grūdų masės komponentų gyvybinės veiklos slopinimas cheminiais preparatais. Grūdų konservantams keliama daug reikalavimų. Jie turi būti nuodingi mikroorganizmams, ypač pelėsiams, erkėms, vabzdžiams, bet jie turi nemažinti grūdų vartojamosios vertės, nekenkti gyvuliams ir žmonėms. Be to, reikia nepamiršti, kad kenkėjai prie konservanto ilgainiui pripranta. Šiuo metu pašariniai grūdai konservuojami mažos molekulinės masės organinių rūgščių (acto, skruzdžių, propiono) preparatais (Kučinskas, 1999).

Žinoma ir daugiau konservavimo būdų, pavyzdžiui, atšaldymas iki tam tikros temperatūros, CO2 dujų naudojimas. Tačiau šie metodai pakankamai brangūs ir sudėtingi gamybinėmis sąlygomis (Bakutis, 2004).

Pašarus galima nukenksminti fiziniais, cheminiais ir biologiniais būdais. Šiuo metu cheminis metodas pašarų nukensksminimui taikomas rečiau. Jis taikomas norint padidinti fizinių nukenksminimo metodų efektyvumą, ypač – grūdų kaitinimą aukštoje temperatūroje. Kalcio hidroksido monoetilaminas inaktyvuoja T-2 toksiną ir diacetoksicirpenolį nuo 10 iki 20 mg kg-1. Natrio bisulfito, natrio hipochlorito, druskos rūgšties, vandenilio peroksido, askorbo rūgšties, amonio hidroksido tirpalai apdorotuose grūduose vomitoksinas (DON) sumažėja apie 80 proc. Formaldehidas bei amonio hidroksidas sumažina zearelenono (ZEN) koncentraciją.

Pašarų nukenksminimui naudojami mineraliniai adsorbentai: aktyvuota anglis, natrio-kalcio aliumonio silikatas, bentonitai, kaolinitai, perlitai, vermikulitai, sintetiniai ceolitai. Pastaruoju metu vis daugiau gaminama mineralinių adsorbentų, turinčių biologiškai aktyvių priedų, dažniausiai mikroorganizmų, kurie fermentacijos būdu inaktyvuoja mikotoksinus. Biologinis metodas – tai fermentinė mikotoksinų regeneracija arba jų metabolizacija į mažiau toksiškus ar netoksiškus junginius (Baliukonienė, 2007).

# Komerciniai detoksikuojantys preparatai

Kai pašaras jau užkrėstas, pašalinti mikotoksinus ar bent sumažinti užterštumą jais yra labai sunku, nes fiziniu ir cheminiu požiūriu šie toksinai yra labai stabilūs. Šiuolaikinės detoksikavimo priemonės pagrįstos dviem pagrindinėmis strategijomis:

1. Toksinų eliminacijos pagreitinimu (toksinų rezorbcija absorbentu, tokiu būdu rezorbcijos į kraują blokavimu).
2. toksiškumo mažinimu (biologinė detoksikacija) (Bakutis 2004).

Specialūs pašarų papildai žinomi kaip mikotoksinų adsorbentai arba rišančios medžiagos yra naudojami mikotoksinų profilaktikai. Manoma, kad šios medžiagos suriša mikotoksinus ir užkerta kelią jų absorbcijai. Adsorbentai geba tiesiogiai absorbuoti nuodus ir ksenobiotikus. Šių medžiagų absorbcija prasideda rūgštinėje skrandžio terpėje. Adsorbentai mažina krūvį į detoksikuojamus organus, reguliuoja hemostazę, neleidžia pažeisti žarnų epitelio ląstelių, tuo pat metu ir jų vientisumo, kad mikotoksinai ir kitos medžiagos iš virškinimo trakto nepatektų į kraują. Adsorbentų efektyvi dozė priklauso nuo adsorbentų imlumo ir pašaro kontaminacijos. Didelės dozės adsorbentų gali pakeisti fizines pašaro savybes, trukdyti pašaro apdorojimo procesui ir keisti pašaro raciono specifikaciją. Iki šiol atlikti tyrimai, kurių tikslas nustatyti, kaip įvairūs į pašarą dedami adsorbentai (daugiausia aliuminio silikatai) savo paviršiumi absorbuoja mikotoksinus ir kokiu būdu sutrikdo jų rezorbciją iš virškinimo trakto (Bakutis, 2004). Dėl aliumosilikatų taikymo mikotoksinų detoksikavimui buvo padarytos išvados, kad jie yra labai veiksmingi užkertant kelią aflatoksinams, tačiau jų veiksmingumas prieš zearalenono, ochratoksino ir trichotecenų yra ribotas. Šių adsorbentų privalumas tas, kad jie dedami tiesiai į pašarus, yra pigūs, tačiau reikalingos didelės dozės (Huwig et al., 2001). Taip pat mikotoksinų detoksikavimui naudojama aktyvinta anglis, sudaryta iš organinių medžiagų, t.y. netirpių miltelių su dideliu paviršiaus ir masės santykiu. Jau 19 amžiuje aktyvinta anglis buvo naudojama kaip priešnuodis nuo apsinuodijimų. Kolestiraminas yra anijonų mainų derva, kuri yra naudojama tulžies rūgščių sujungimui virškinimo trakte, mažo tankio lipoproteinų ir cholesterolio sumažinimui. Tačiau ochratoksinų koncentracijos sumažinimui kraujyje, audiniuose ir tulžyje didelės įtakos nedaro (Ramos et al., 1996 b). Kitas adsorbentas yra krospovidonas (polivinilpirolidonas), labai polinis amfoterinis polimeras, kuris buvo vertinamas kaip zearalenono absorbentas (Alegakis et al. 1999). Mielės turi puikią maistinę vertę, taip pat gali būti naudojamas kaip mikotoksinų adsorbentas. Tačiau jos tik šiek tiek sumažina ochratoksino koncentraciją kraujo plazmoje, tulžyje ir audiniuose. Naudojama tik mielių ląstelių sienelės, o ne visa ląstelė (Huwig et al., 2001). Lietuvoje mikotoksinais užterštiems pašarams detoksikuoti pastaruoju metu beveik be išimties naudojami komerciniai preparatai. Pirmasis Lietuvoje registruotas komercinis preparatas absorbentas - „Mycobond“. Jis gerai veikė aflatoksinus, bet beveik nedarė jokio poveikio fuzariotoksinams. Kadangi mūsų klimato sąlygomis pirmiausia reikia detoksikuoti fuzariotoksinus, buvo pradėti naudoti kiti produktai:“Fix-a-tox“, „Toxiban“, „Toxinil“, „PX-007“, „Microbond“, „Mycofix-Plus“, „Mycofix Plus 3,0“ ir kiti.

Norint ištirti komercinių preparatų veiksmingumą buvo atliktas tyrimas su vienadieniais viščiukais. Bandymui atsitiktinai atrinkti 189 viščiukai, kurie buvo suskirstyti į kontrolinę ir bandomąją grupes. Bandomoji grupė su įprastais lesalais gavo „Mycosorb“ preparato. Kai viščiukams suėjo 6 savaitės, bandymas buvo nutrauktas. Atsitiktinės atrankos metu buvo paimti kraujo tyrimai iš kontrolinės ir bandomosios grupės, kurie parodė, kad nenaudojant „Mycosorb“ absorbento, žymiai padidėjo GGT (gama-gliutamiltranspeptidazės), HBG (hemoglobino), AST (aspartataminotransferazės) kiekis, o BUN (kraujo šlapalo azoto) ,RBC (eritrocitų) sumažėjo. Naudojant adsorbentą normos ribose sumažėjo AST, GGT, tačiau pagerino BUN koncentraciją. „Mycosorb“ dalinai apsaugojo organizmą nuo žalingo mikotoksinų poveikio, sumažino kraujo rodiklių pokyčius, kepenų pažeidimus, dalinai atstatė mikotoksinų sukeltus nuostolius (Che et al., 2011). Panašūs rezultatai buvo pastebėti ir kitų mokslininkų (Aravind et al., 2003), jie nustatė, kad adsorbentu papildytas pašaras pagerino kraujo šlapalo azoto koncentraciją ir sumažino GGT veiklą. Dvorska ir kiti tyrėjai (2007) teigė, kad „Mycosorb“ įtraukimas į T-2 toksinais užterštą pašarą tik dalinai apsaugojo nuo žalingo poveikio, bet nepagerino paukščių augimo. Girish ir kitų mokslininkų (2008) nuomone, adsorbentų naudojimas teigiamai veikia ir žarnų morfometrinius duomenis (žarnų gaurelių ilgį, plotį). Ramos ir kiti mokslininkai (1996) teigė, jog adsorbentai panaikina mikotoksinų žalingą poveikį žarnų epiteliui ir taip sustabdomas mikotoksinų perdavimą audiniams. Intensyviai vystantis mikotoksikologijos mokslui, daug dirbama ir tobulinant detoksikuojamuosius preparatus. Jei iš pradžių aptarėme tik absorbentus, tai dabar kalbėsime apie naujos kartos komercinius preparatus, kurie turi ir kitų savybių. Kuriant naujus preparatus naudojami enzimai, bakteriniai agentai, kurie pakeičia mikotoksinų cheminę struktūrą ir taip panaikina nuodingąsias toksino savybes. Kadangi daugelis mikotoksinų pažeidžia kepenų funkciją, silpnina imuninę sistemą, tai į naujos kartos detoksikantus pridedama komponentų, kompensuojančių šiuos pažeidimus. Tačiau detoksikuojamuosius preparatus reikia tobulinti – mažinti neigiamą absorbcinės grupės poveikį. Bandymais nustatyta, kad detoksikuojamieji preparatai „nusineša“ su savimi dalį vitaminų, mikro ir makroelementų, amino rūgščių ir kitų biologiškai aktyvių medžiagų (Bakutis, 2004).

# Paukščių virškinimo sistemos ypatumai

Virškinamųjų organų paskirtis – priimti maisto medžiagas ir paversti jas paprastesnėmis. Virškinamųjų organų sistemai priklauso burnos ertmė, ryklė, stemplė, gūžys, liaukinis skilvis, plonoji žarna, aklosios žarnos, tiesioji žarna ir kloaka (Jocius, 1986). Paukščiai neturi dantų. Burnos ertmę apriboja viršutinė ir apatinė snapo dalys. Snapu gali būti atplėšiamas maistas nuo didesnio gabalo ar lesamas birus lesalas. Snapas yra odos darinys. Vištinių paukščių snapas yra kūgio formos. Burnoje nėra minkšto gomurio, todėl burnos ertmė neatskirta nuo ryklės. Liežuvio forma atitinka snapo formą. Dėl liežuvyje esančių nervų galūnių paukščiai jaučia skonį, nors maistas burnoje ir nesmulkinamas. Burnos ertmėje yra pažandinės, poliežuvinės, paausinės, viršžandikaulinės ir gomurinės seilių liaukos. Šios liaukos suvilgo lesalą, kad šis galėtų nuslinkti į stemplę bei gūžį (Burža, Žentelytė, 1983).

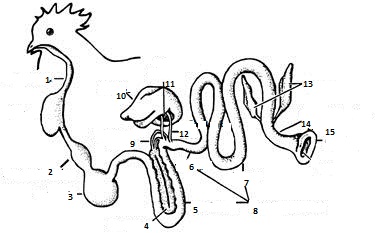
Stemplė yra tuščiavidurio vamzdžio pavidalo į apačią siaurėjanti 7–12 mm skersmens virškinamojo trakto dalis. Ji skirstoma į viršutinę ir apatinę dalis. Viršutinė dalis prasideda prie ryklės ir baigiasi ties gūžiu, apatinė prasideda gūžiu ir baigiasi prie liaukinio skilvio. Stemplės sienelė susideda iš trijų sluoksnių. Išviršinis sluoksnis kaklo dalyje sudarytas iš puriojo jungiamojo audinio sluoksnio, krūtinės dalyje – iš serozinio sluoksnio. Šiais sluoksniais stemplė jungiasi su aplinkiniais organais. Vidurinis ( raumeninis) sluoksnis susideda iš dviejų sluoksnių lygiųjų raumenų: žiedinių ir išilginių. Tarp jų yra tarpraumeninis nervinis tinklas. Susitraukinėdami stemplės raumenys varo maistą žemyn. Stemplės gleivinė susiraukšlėjusi. Ryjant kąsnį, ji išsitempia ir išsitiesina. Stemplės gleivinės viduje yra į maišelius panašios liaukelės, kurių ištekamieji latakėliai atsiveria į vidų, kad jų sekretas labiau suvilgytų lesalus ir lengviau slystų į gūžį. (Jocius, 1986).

Gūžys – stemplės išsiplėtimas, kuriame laikinai susikaupia sulestas maistas. Gūžio įeinamoji ir išeinamoji angos dėl susitraukiamųjų raumenų gali atsidaryti ir užsidaryti. Gūžio gleivinė taip pat išskiria sekretą, kuris, susimaišęs su lesalo atsargomis, suminkština ir atskiedžia turinį. Gūžyje pradedam virškinti angliavandeniai ir baltymai (Burža, Žentelytė, 1983).

Skilvys susideda iš dviejų dalių – liaukinės ir raumeninės. Abi skilvio dalys tiek forma, tiek ir sandara skiriasi. Liaukinis skilvis (*pars glandularis ventriculi*) yra šeivos formos. Jis guli tarp kairiosios ir dešiniosios kepenų skilčių. Liaukinio skilvio galas susiaurėja ir pereina į raumeninį skilvį. Susiaurėjusi liaukinio skilvio dalis vadinama tarpine (*zona intermedia*). Liaukinio skilvio gleivinės liaukos atitinka žinduolių skrandžio dugno liaukas. Liaukinio skilvio sienelėse esančios liaukutės išskiria gleives ir virškinimo fermentą (pepsiną). Čia maistą suvilgo fermentai ir, ilgai neužsilaikęs liaukiniame skilvyje, maistas pereina į didelį raumeninį skilvį (*ventriculus*). Skilvio ertmę iškloja epitelis, kuris išskiria į ragą panašios sandaros skaidulinį baltymą keratiną. Iš keratino susidaro kutikula. Skilvio kutikuloje nėra nervinių galūnių, todėl ji nejautri ir neskausminga. Raumeninis skilvys (*muscularis ventriculi*) yra ovalus, šiek tiek į šonus suplotos formos. Greta liaukinio skilvio atsivėrimo vietos iš raumeninio skilvio išeina dvylikapirštė žarna. Raumeninis skilvis guli labiau įstrižai. Jo raumenys susideda iš plono išilginio ir labai storo žiedinio sluoksnio. Raumeninės skilvio dalies gleivinė turi liaukas, kurios atitinka žinduolių piliorines liaukas. Sukietėjęs liaukų sekretas ir epitelio kutikula sudaro kietą keratininę plėvelę, kuri apsaugo gleivinę ir padeda sutrinti pašarą. Pagrindinė raumeninio skilvio funkcija yra mechaninė (Pabijanskas, 1967).

Dvylikapirštė žarna išeina iš raumeninio skilvio. Prie dubens ji daro linkį ir vėl grįžta atgal. Kilpoje guli kasa. Tuščioji ir klubinė žarnos pakabintos ant ilgo serozinio pasaito. Jos guli susirangiusios pilvo ląstoje tarp oro maišų. Plonųjų žarnų viduryje yra mažas aklas maišelis (*diverticulum caeci vitelli*), embrioninio trynio maišelio liekana. Žarnų gleivinė raukšlėta, gleivinės gaureliai ilgi.

Storosios žarnos nuo plonųjų atskirtos žiedine gleivinės raukšle. Už raukšlės iš storosios žarnos išeina dvi aklosios žarnos. Jų aklieji galai atkreipti į priekį. Aklosios žarnos guli iš abiejų klubinės žarnos pusių, susijungusios su ja seroziniu raiščiu. Prie įėjimo į akląsias žarnas yra gleivinės iškilimas iš limforetikulinio audinio (*tonsilla caecali*). Storoji žarna pakabinta ant serozinio pasaito, ventraliai stuburo. Praplatėjęs kaudalinis jos galas vadinamas kloaka. Viena žiedinė geivinės raukšlė skiria kloaką nuo storosios žarnos, o dvi raukšlės dalija į tris dalis: priekinę, vidurinę ir kaudalinę. Į vidurinę kloakos dalį atsiveria šlapintakiai, sėklatakiai arbakiaušintakiai. Kloakos kaudalinės dalies dorsalinėje sienoje yra Fabricijaus (*bursa Fabricii*). Jauno paukščio Fabricijaus bursa yra didesnė nei senesnio. Seniems paukščiams ji visai išnyksta. Paukščių žarnos yra palyginti trumpos. Vištos žarnų ilgis svyruoja nuo 170 cm iki 260 cm.



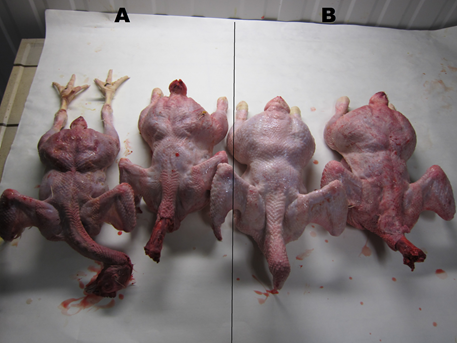
1 pav. **Paukščių virškinamasis traktas (Kent, 2012**)

(1- stemplė, 2- liaukinis skilvys, 3- raumeninis skilvys, 4- kasa, 5-dvylikapirštė žarna, 6- tuščioji žarna, 7- klubinė žarna, 8- plonosios žarnos, 9- kasos latakas, 10- kepenys, 11- tulžies pūslė, 12- tulžies latakas, 13- akloji žarna, 14- storosios žarnos, 15- kloaka )*( prieiga per internetą http://www.daff.qld.gov.au/27\_2705.htm, 2012)*

# TYRIMO OBJEKTAS IR TYRIMO METODAI

Tyrimas atliktas 2011-2012 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos Patologijos centre ir „X paukštyne“. Tirta „Escent“ preparato poveikis broilerių dvylikapirštės žarnos gleivinei bei kraujo biocheminiams rodikliams.Kraujo biocheminiai tyrimai buvo atlikti UAB „Antėja“, medicinos diagnostikos laboratorijoje.

Bandymui sudarytos 2 grupės po 40 broilerių kiekvienoje grupėje. Pirma grupė kontrolinė, antroji bandomoji. Bandymas pradėtas nuo vienadienių broilerių, kurie buvo auginami iki 35 dienų, po to skerdžiami (2 pav.).



2 pav. **Broilerių skerdenėlės. A- kontrolinė grupė, B-bandomoji** (autorės nuotrauka)

Kontrolinės grupės broileriai buvo lesinami pramoninės gamybos standartiniais lesalais. Bandyme naudotų kombinuotų lesalų sudėtis pateikta 1 priede. Bandomosios grupės broileriai taip pat buvo lesinami tais pačiais lesalais. Šiai grupei į vandenį buvo dedamas mikotoksinų absorbentas „Escent“.

Abi viščiukų grupės buvo laikomos vienodomis sąlygomis, kurios atitinka zootechninius reikalavimus.



3 pav. **Broilerių dvylikapirštė žarna paimta histomorfometriniam tyrimui** (autorėsnuotrauka)

# Histomorfometrinis tyrimas

Histomorfometriniam tyrimui buvo imta dvylikapirštės žarnos dalis ties tulžies lataku (40 kontrolinės ir 40 bandomosios grupės mėginių) (3 pav.). Audiniai fiksuoti 10 proc. neutraliu formalino tirpalu 3-5 dienas vienkartiniuose indeliuose.

Patologinė medžiaga pjaustoma audinių paruošiamajame kabinete, sudėta į biopsines kasetes ir merkiama pamerkta į šaltą tekantį vandenį 24 val., kad išplauti 10 proc. formaliną patologinėje medžiagoje.

Po 24 val. biopsinės kasetės su patologine medžiaga sudėtos į audinių įmirkymo procesorių *„Shandon Pathcentre, USA“*. Jame patologinė medžiaga, esanti biopsinėse kasetėse, dehidratuota 60 º, 80 º ir 96 º etilo alkoholyje po 2,3 val. ir izopropanolio alkoholyje po 1,3 val. Vėliau patologinė medžiaga skaidrinama chloroforme po 1,3 val. Po dehidratavimo ir skaidrinimo patologinė medžiaga impregnuota parafinu A,B,C,D po 1,3 val. ir po 1 val. Visas procesas trunka apie 24 val.Pasibaigus automatiniam audinių paruošimo etapui, tiriamieji audinių mėginiai įliejami į parafininius blokus naudojant audinių įliejimo įrangą „*Tes 99*“.

Vėliau parafininis blokelis su patologine medžiaga atvėsinamas ant šaldomo stalelio, kad įgytų reikiamą mėginio tvirtumą. Pjaunami iš suformuotų parafininių blokų 4 µmstorio parafininiai audinių pjūviai (mikropjūviai), naudojant „*Sakura Accu-Cut® SRM ™,Japonija*“ pusiau automatinį rotacinį mikrotomą. Atpjautas pjūvis adatėlių pagalba perkeliamas į 37 ºC temp. termostatinę vandens vonelę ir pjūvis tiesinamas. Vandens vonelėje parafininių pjūvių juosta ištiesinama ir padalijama atskirais pjūviais, kurie vėliau perkeliami ant objektinio stiklelio. Objektinis stiklelis su pjūviu perkeliamas 5 val. ant reguliuojamos kaitinimo plokštės „*Thermo Scientific Hotplate“*, kurios temp. 37 ºC. Vėliau objektiniai stikleliai sudedami į termostatą *„Binder“* 24 val. 37 ºC temp.

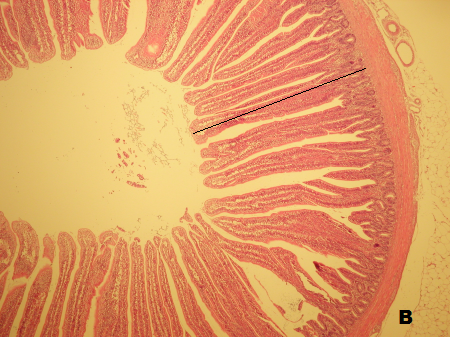
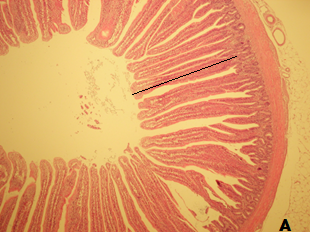
Po 24 val. termostate išdžiūvę parafininiai audinių pjūviai dažomi naudojant histologinių pjūvių automatinį dažymo įrenginį „*Sakura Tissue-Tek® DRS ™*, *Japonija*“.

**Dažymas HE** susideda iš šių etapų:

1. Pjūvio deparafinavimas ksilenu - 13 min., jo metu yra pašalinamas parafinas iš pjūvio;
2. Pjūvio dehidravimas izopropanolio alkoholiu - 2 min., 96° etilo alkoholiu - 4 min. Prieš dažymą skalaujama vandeniu, kuris pašalina alkoholį.
3. Pjūvio dažymas hematoksilinu - 10 min., merkiamas į vandenį - 5 min., etilo alkoholis 96°- 2 min., vanduo - 5 min., eozino dažai - 5 min., vanduo - 1 min.
4. Pjūvių dehidratavimas 96° etilo alkoholiu - 1 min., izopropolio alkoholiu - 1 min.
5. Pjūvių skaidrinimui naudojamas ksilenas - 1 min. Nudažius objektiniai stikleliai dengiami ilgalaikio saugojimo dengiamąja terpe *„Thermo Shandon Consul-Mount histology formulatio“.*

Paruošti histologiniai preparatai buvo analizuojami ir įvertinami LSMU VA Patologijos centro labaratorijoje, naudojantis „*OlympusDP72 BX63* „ mikroskopu ir naudojantis Image Pro Plus programos (*Olympus*)sistemą, morfometriškai išmatuoti bandomosios ir kontrolinės grupės broilerių dvylikapirštės žarnos gaurelių ilgiai, bendras gleivinių storis bei kriptų gyliai. Gaurelių ilgiai buvo matuojami vedant statmeną nuo gaurelių viršūnės iki gaurelių – kriptų jungties, storiai – vedant statmeną nuo gaurelių viršūnės iki gleivinės raumeninio sluoksnio.Kiekviename mėginyje atlikta 10 matavimų gaurelių (geriausiai išreikštų) ilgiui išmatuoti ir tose pačiose vietose dar 10 matavimų

gleivinės storiui išmatuoti. Iš gleivinės storio atėmus gaurelių ilgį gautas kriptų gylio rodiklis. Matavimo vienetas – mikrometras (µm).



4-5 pav. **Histomorfometrinis dvylikapirštės žarnos vaizdas (A-gaurelio aukščio matavimas, x 40, dažyta HE; B- bendras gleivinės storio matavimas, x 40, dažyta HE)** (autorės nuotrauka)

# Mikotoksinų adsorbento „Escent“ charakteristika

Grūdinės kultūros yra įtraukiamos į broilerių racionus, nes jos pasižymi aukšta energetine verte ir žema kaina. Ūkyje buvo naudojami lesalai, kurių sudėtyje buvo kviečiai, sojų rupiniai ir kukurūzai (1 priedas). Ištyrus ūkyje paukščių lesinimui naudojamus lesalus, buvo nustatytas mikotoksinų kiekis pašaruose DON- 1-1,2 mg/kg; T-2- 0,18-0,25 mg/kg. Aptikus lesaluose mikotoksinų, siekiant išvengti paukščių sveikatos sutrikimų, į geriamąjį vandenį buvo pilama adsorbento „Escent“ 0,5 – 2 kg. 1000 l vandens. Paukščiams vanduo buvo tiekiamas į automatines girdyklas.

Mikotoksinų absorbentas „Escent“ **–** kompleksinis preparatas naudojamas mikotoksinų apsinuodijimų, sunkiai diagnozuojamų susirgimų ir stresų profilaktikos atvejais, tačiau kaip ekstra preparatas prieš toksiškumą nenaudojamas. Šio preparato sudėtis:

* Augaliniai ekstraktai (salimarinas, boldinas, flavanoidai);
* Mielių ekstraktas;
* Organinės rūgštys;
* Propilenglikolis;
* Natūralūs ir sintetiniai antioksidantai;
* Kalcio propionatas;
* Ortofosforo rūgštis;
* Citrinos rūgštis;
* Obuolių rūgštis;
* Mineraliniai adsorbentai;

Veikimo principas:

* Suriša įvairius toksinus;
* Pagerina detoksikacijos procesus;
* Pagreitina nuodų išskyrimą;
* Papildo organizmą energija;
* Padidina tulžies sekreciją;
* Palaiko kepenis ir inkstus;
* Antioksidantinė organizmo apsauga;
* Apsaugo virškinimo trakto gleivinę ir mikroflorą;
* Stiprina natūralius organizmo barjerus ir imuninę sistemą;
* Reguliuoja medžiagų apykaitą hepatocituose.

# Biocheminių kraujo rodiklių nustatymas

Pradedant bandymą 5 dienų broileriams buvo atlikti kraujo tyrimai, po 15 dienų kraujo tyrimai buvo pakartoti kontrolinei ir bandomajai grupėms, kuomet „Escent“ preparatas buvo nebegirdomas. Kraujas buvo imamas iš sparno venos į mėgintuvėlį su antikoaguliantu. Kraujo biocheminiai tyrimai buvo atlikti UAB „Antėja“, medicinos diagnostikos laboratorijoje. Biocheminių kraujo tyrimų normos nurodytos 4 lentelėje.

4 lentelė. **Biocheminių kraujo tyrimų normų lentelė** (*http://www.harrisonsbirdfoods.com/)*

| ***Tyrimas*** | ***Norma*** |
| --- | --- |
| TP Bendras baltymas (g/l) | 30-50 |
| UA Šlapimo rūgštis (mkmol/l) | 85-298 |
| ALT Alanininė aminotransferazė (U/l) | 19-50 |
| AST Asparagininė aminotransferazė (U/l) | 20-350 |
| ALP Šarminė fosfatazė (U/l) | 46-126 |
| TBIL Bilirubinas bendras (mkmol/l) | 5-22 |
| P-AMYL Pankreatinė amilazė (U/l) | 0-53 |
| P Fosforas (mmol/l) | 0,78-1,65 |
| Ca++ Jonizuotas kalcis (mmol/l) | 1,05-1,3 |
| Ca Kalcis (mmol/l) | 2,15-2,6 |

Gauti kraujo tyrimų rezultatai apdoroti statistiškai. Skaičiuoti statistinių duomenų vidurkiai (M), vidutinė aritmetinė paklaida (±m), vidutinis kvadratinis nukrypimas (k), patikimumo kriterijus (t), skirtumų patikimumo laipsnis (P). Vidurkių skirtumų reikšmingumui įvertinti skaičiuotas Mano- Vitnio- Vilkoksono kriterijus. Lyginant kontrolinę ir bandomąją grupes, kraujo biocheminiai duomenys buvo statistiškai reikšmingi (p<0,1).

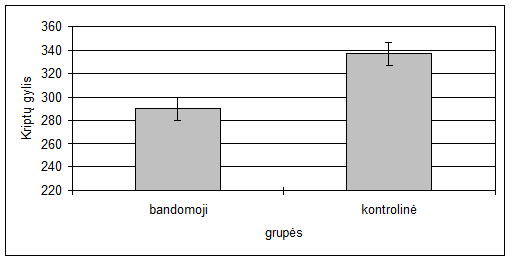
# TYRIMO REZULTATAI

# 3.1 Mikotoksinų adsorbento „Escent“ įtaka broilerių dvylikapirštės žarnos gaurelių ilgiui ir kriptų gyliui

Atlikus histomorfometrinius dvylikapirštės žarnos gleivinės tyrimus, bendrai buvo nustatyta, kad bandomojoje grupėje (broileriai su lesalais gavo mikotoksinų adsorbentą **„Escent“)** bendras gaurelių ilgio vidurkis buvo 1485,2 µm, tai yra 8,2 proc. didesnis nei kontrolinės grupės (1372,3 µm**)**, kai tuo tarpu bandomosios grupės kriptų gylio vidurkis buvo 290,2 µm, 16,0 proc. mažesnis nei kontrolinės grupės (336,7 µm) (5-6 lentelės, 5 pav.).

5 lentelė. **12-pirštės žarnos gaurelių ir kriptų gylių statistiniai duomenys (vidurkis, vidurkio paklaida)**

| Mėginys | Kontrolinė | | Bandomoji | |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Kriptų gylis | Gaurelių ilgis | Kriptų gylis | Gaurelių ilgis |
| 1 | 281,4±4,13 | 1187,7±37,20 | 297,1±15,78 | 1384,8±32,42 |
| 2 | 383,9±15,94 | 1220,6±42,56 | 325,1±21,54 | 1777,9±57,3 |
| 3 | 349,2±17,78 | 1449,9±39,80 | 259,6±24,45 | 1689,0±97,62 |
| 4 | 495,9±25,32 | 1513,3±34,25 | 295,4±18,55 | 1381,5±77,06 |
| 5 | 289,6±17,21 | 1445,1±117,44 | 280,8±27,65 | 1524,3±35,31 |
| 6 | 257,5±28,95 | 1217,8±63,90 | 319,2±19,66 | 1526,9±72,74 |
| 7 | 302,8±19,50 | 1200,3±21,94 | 279,0±22,06 | 1482,5±69,71 |
| 8 | 422,8±34,42 | 1657,7±52,41 | 322,0±22,74 | 1422,6±28,17 |
| 9 | 287,1±20,32 | 1573,7±24,84 | 335,2±13,75 | 1574,2±64,62 |
| 10 | 364,9±14,94 | 1049,2±40,59 | 245,9±14,08 | 1118,5±26,59 |
| 11 | 251,3±19,10 | 1060,1±59,97 | 315,5±26,79 | 1296,8±42,31 |
| 12 | 354,5±11,69 | 974,8±33,28 | 246,2±20,18 | 1585,1±72,15 |
| 13 | 311,5±20,48 | 1454,1±30,06 | 269,8±18,91 | 1675,6±41,37 |
| 14 | 486,7±53,35 | 1269,5±99,40 | 262,1±11,65 | 1364,8±91,57 |
| 15 | 349,1±24,36 | 1791,6±64,11 | 206,2±13,64 | 1460,4±76,86 |
| 16 | 299,6±19,80 | 1366,9±46,93 | 325,1±21,54 | 1777,9±57,30 |
| 17 | 317,7±23,44 | 1471,5±108,27 | 356,5±42,95 | 1769,2±128,96 |
| 18 | 271,0±10,11 | 1166,5±84,05 | 310,1±12,74 | 1284,5±43,13 |
| 19 | 320,5±27,11 | 1908,3±36,54 | 247,1±16,98 | 1234,3±19,78 |
| 20 | 331,9±15,55 | 1370,0±61,22 | 305,2±24,84 | 1372,3±47,20 |
| Variacija, proc. | 19,2 | 15,9 | 13,0 | 12,7 |
| Min | 251,3 | 974,8 | 206,2 | 1118,5 |
| Max | 495,9 | 1908,3 | 356,5 | 1777,9 |



5 pav. **Kontrolinės ir bandomosios grupės dvylikapirštės žarnos kriptų gylis (µm)**

Tyrimų rezultatai parodė, kad girdant paukščius „Escent“ preparatu jų dvylikapirštės žarnos gaureliai padidėjo, padidėjo paviršiaus plotas, tačiau kriptų gylis bandomojoje grupėje sumažėjo (5 pav.). Tai reiškia, kad galėjo sumažėti kriptų išskiriamo sekreto. Lyginant kontrolinę ir bandomąją grupes, kriptų gylis ir gaurelių ilgis skyrėsi statistiškai reikšmingai (p<0,05).

6 lentelė. **Kontrolinės ir bandomosios grupės tyrimų rezultatai (bendri grupių vidurkiai, µm)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grupė | n | Kriptos (gylis) | Gaureliai (ilgis) |
| Bandomoji | 20 | 290,2±8,46 | 1485,2±42,2 |
| Kontrolinė | 20 | 336,7±16,07 | 1368, ±58,1 |

## 3.2 Kraujo biocheminių rodiklių tyrimas

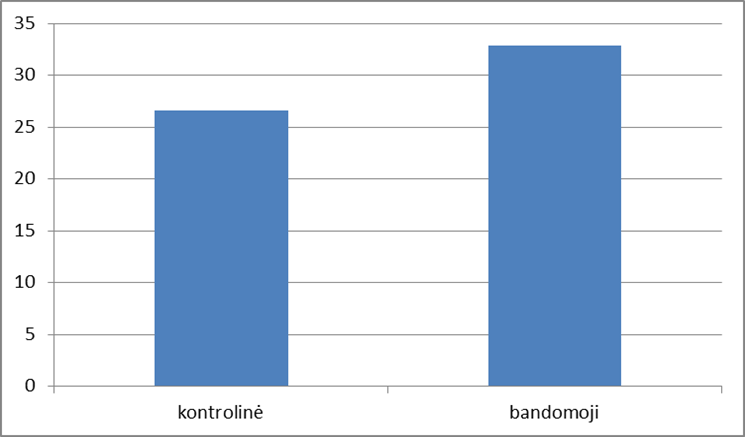
Vienas iš darbo uždavinių buvo nustatyti mikotoksino absorbento poveikį kraujo biocheminiams rodikliams. Gauti duomenys pateikti 7 lentelėje.

7 lentelė. **Broilerių kraujo biocheminiai duomenys**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kraujo rodikliai | Grupės | |
| Kontrolinė | Bandomoji |
| n = 6 | n = 6 |
| Tp | 26,62±0,991 | 32,88±6,986 |
| UA | 306,0±42,92 | 345,7±57,49 |
| ALT | 0,97±0,680 | 3,83±2,062 |
| AST | 224,5±8,51 | 204,2±25,79 |
| ALP | 7602,4±1800,92 ' | 11562,6±796,43 |
| AMY | 420,4±41,32 | 683,8±310,39 |
| TBIL | 2,70±0,408 | 2,88±0,283 |
| P | 2,45±0,069\*\* | 1,80±0,179 |
| CA++ | 1,95±0,018 | 1,78±0,109 |
| CA | 2,86±0,037 ' | 2,62±0,126 |

\*Kraujo rodiklių santrumpos ir rodiklių norma nurodyta 4 lentelėje

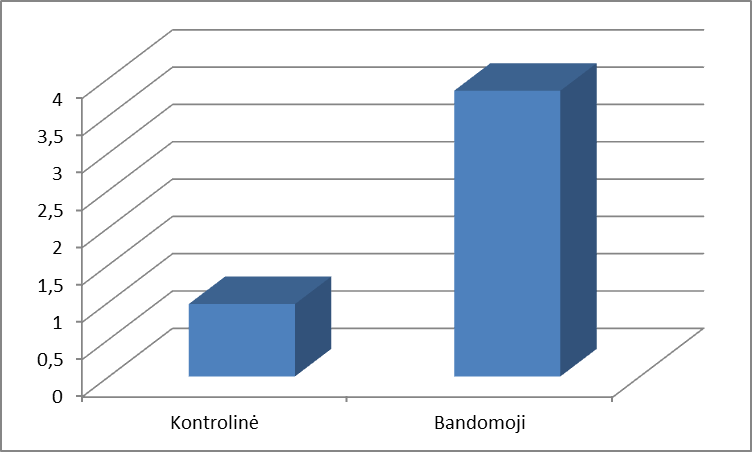
Lyginant abi grupes, bandomojoje grupėje Tp buvo 17 proc. didesnis nei kontrolinėje. Tačiau abi grupės buvo normos ribose. Baltymo koncentracijos kraujyje padidėjimas gali atsirasti netekus skysčių, esant cirozei, lėtiniam kepenų uždegimui, įvairiems kraujo susirgimams. Baltymo koncentracijos kraujyje sumažėjimas nustatomas sergant odos ligomis, tirotoksikoze, sutrikus inkstų funkcijai ir kt.



6 pav. **Bendro baltymo kiekis kontrolinėje ir bandomojoje grupėje (g/l)**

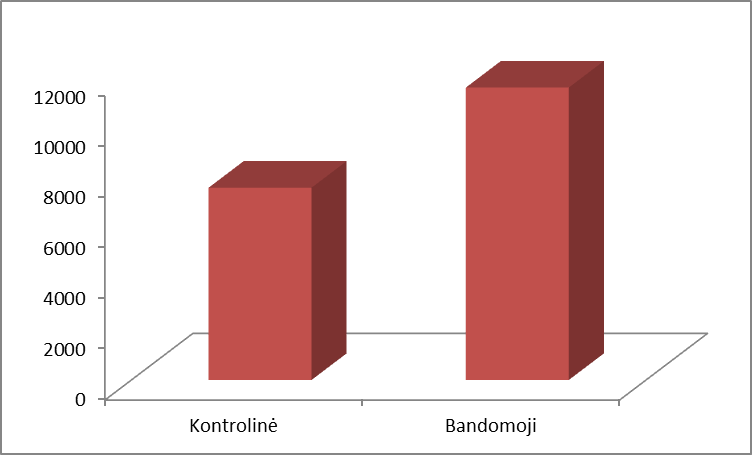
Tyrimų duomenimis, kad 12 proc. šlapimo rūgšties kiekis buvo didesnis bandomojoje grupėje, abi grupės viršijo normos ribas, tai rodo galimus inkstų pažeidimus. Šlapimo rūgšties kiekis kraujyje padidėja, kai sutrinka baltymų-vandens apykaita audinių irimo procese (nekrozė). Šlapimo rūgšties padidėjimas kraujyje broileriams atsiranda inkstų pažeidimų atveju, kurie gali būti ir toksinės, ir infekcinės kilmės - (Gamboro liga, infekcinis bronchitas).

ALT (alaninaminotransferazė) – vienas iš jautriausių fermentų, rodančių kepenų pažeidimą. ALT padeda anksti diagnozuoti hepatitą, slaptas ligos formas. ALT aktyvumas padidėja jau ligos pradžioje, kai dar kiti rodikliai (bilirubinas, AST) yra normos ribose. ALT rodiklis buvo 74 proc. didesnis bandomojoje grupėje, tačiau AST kiekis, kuris rodo kepenų ligas, buvo 9 proc. buvo mažesnis. Tiek kontrolinėje, tiek bandomojoje grupėse šis rodiklis buvo žemiau normos.



7 pav. **ALT kiekis kontrolinėje ir bandomojoje grupėje (U/l)**

ALP (šarminė fosfatazė) tyrimas atliekamas kaulų ir kepenų patologijai įvertinti (vėžio metastazės kauluose, kaulų sarkoma, osteoporozė ir kt.). Jis taip pat padeda nustatyti žarnyno bakterines infekcijas, žarnų uždegimą, infekcinę mononukleozę. ALP 35 proc. buvo didesnis bandomojoje grupėje. Lyginant abi grupes, bandomojoje grupėje 36 proc. buvo didesnis AMYL, 15 proc. TBIL kiekis (6 pav.).



8 pav. **ALP** **kiekis kontrolinėje ir bandomojoje grupėje (U/l)**

# TYRIMO REZULTATŲ APTARIMAS

Gyvūnų pašarų užteršimas mikotoksinais yra didelė ūkininkų problema visame pasaulyje. Dauguma mikroskopinių grybų daugindamiesi grūduose gamina antrinius metabolitus – mikotoksinus, kurie yra pavojingi žmonėms ir gyvuliams, ir esant skirtingoms sąlygoms vyrauja įvairių rūšių javuose: kviečiuose, miežiuose, sorge, avižose, rugiuose, sorguose, kukurūzuose. Labiausiai paplitę ir tiriami šie mikotoksinai: trichotecenai (DON, T–2 ir kiti), zeralenonas, aflatoksinai, ochratoksinai. Pašarai, užkrėsti mikotoksinais, sukelia sunkias ligas, kančias, mirtį ir didelius ekonominius nuostolius. Šiomis dienomis dažniausiai taikomas metodas nuo mikotoksinų – naudojami absorbentai, sumaišyti su pašaru (Huwig et al., 2001).

Gyvulių jautrumas mikotoksinams priklauso nuo amžiaus, lyties, mikroklimato, toksinų kiekio pašare, pašaro laikymo sąlygų ir kt. (Pavilionis ir kt., 2000). DON jautriausios kiaulės, po to paukščiai ir galvijai. Patekęs į organizmą nedidelėmis dozėmis (0,75 – 1,5 mg/kg) sumažina organizmo imuninį atsaką (Rotter ir kt., 1996).

Paukščiai mažiau jautrūs lesinant lesalais, turinčiais 300 – 800 ppm ZON jau po 4 dienų pastebimas Fabricijaus bursos padidėjimas, kiaušlatakių, kloakos pabrinkimas (Mirocha, 1983).

Atliktas bandymas su 1 – 35 dienų viščiukais tiriant įvairių DON dozių lesaluose poveikį broilerių organizmui, įmaišius komercines detiksikuojančias medžiagas. Lesaluose DON užterštumas 21,2 mg/kg imtos koncentracijos:16,5 proc.; 33,0 proc.; 49,5 proc., ir 65, o proc. Atliktas tyrimas parodė, kad komercinė detiksikuojanti medžiaga nuo neigiamo DON poveikio neapsaugojo (S. Dänicke et al., 2003).

Grūdiniams produktams apsaugoti nuo mikroskopinių grybų naudojamos įvairios priemonės tiek laukuose, tiek sandėliuose. Laukuose mikotoksinų plitimą sumažinti ar sustabdyti galima taikant geras agrotechnines priemones: sėjomainą, dirvos įdirbimą, tręšimą. Sandėliuose mikotoksinų plitimas mažinamas reguliuojant sandėlių drėgmę ir temperatūrą.

Pašarų detoksikavimas gali būti atliekamas fiziniais, cheminiais ir biologiniais metodais. Pagrindinis šio darbo tikslas išsiaiškinti, kokį poveikį mikotoksinų adsorbentas „Escent“ daro broilerių dvylikapirštės žarnos gaurelių ilgiui, kriptų gyliui bei kraujo biocheminiams rodikliams.

Pagrindinis šio darbo tikslas išsiaiškinti, kokį poveikį mikotoksinų adsorbentas „Escent“ daro broilerių dvylikapirštės žarnos gaurelių ilgiui, kriptų gyliui bei kraujo biocheminiams rodikliams.

Tyrimų rezultatai parodė, jog bandomosios grupės dvylikapirštės žarnos gaurelių ilgis buvo didesnis, tai yra padidėjo žarnos paviršiaus plotas, adsorbentas padėjo geriau įsiurbti suvirškintas maisto medžiagas. Esant mažesniam kriptų gyliui, sumažėjo ir tauriškųjų ląstelių, kurios išskiria sekretą, gerinantį virškinimą. Be to, kriptų dugne yra stambių ląstelių, kurių citoplazmoje yra granulių atsakingų už lygiųjų raumenų tonusą. Sumažėjus kriptų gyliui sulėtėja ir lygiųjų raumenų tonusas. Pašaras ilgiau užsilaiko dvylikapirštėje žarnoje, todėl geriau pasisavinamos suskaidytos medžiagos (riebalai, baltymai, angliavandeniai). Todėl, galime teikti, jog „Escent“ preparatas gerina virškinamumą. Tačiau, reikšmingų priesvorių skirtumų tyrimo metu nebuvo gauta. Girish ir kiti tyrėjai, (2008) atlikę bandymus, nustatė, kad adsorbentas GMA taip pat teigiamai veikia dvylikapirštės žarnos morfometrinius duomenis. Mikotoksinų adsorbentai mažina krūvį į detoksikuojamus organus, reguliuoja hemostazę, neleidžia pažeisti žarnų epitelio ląstelių, tuo pat metu ir jų vientisumo, kad mikotoksinai ir kitos medžiagos iš virškinimo trakto nepatektų į kraują. Yra nustatyta, kad žarnų gaurelių ilgis yra tiesiogiai proporcingas padidėjusiam virškinimui ir absorbciniam paviršiui bei fermentų ir maisto medžiagų transportavimui. Plonųjų žarnų gaurelių ir kriptų pagrindinė funkcija yra padidinti žarnyno absorbcinio paviršiaus plotą. Kriptos paviršiaus plotą padidina ~ 10 kartų, o gaureliai – 20 kartų.

Kriptos daugiausia atsakingos už sekreciją. Kriptų pagrinde yra susikaupusios kamieninės žarnyno ląstelės iš kurių vėliau vystosi kitos žarnyno ląstelės (gaureliai).

Literatūroje negausu tyrimo duomenų, apibūdinančių, kaip kinta paukščių kraujo biocheminiai rodikliai, naudojant detoksikuojančios medžiagas.

Atliktų kraujo tyrimų rezultatai rodo, jog naudojant mikotoksinų absorbentą „Escent“ padidėjo bendras baltymas, šlapimo rūgštis, alaninaminotransferazė, šarminė fosfatazė, bendras bilirubino, pankreatinė amilazė kiekis, o sumažėjo asparagininė aminotransferazės, fosforo ir kalcio kiekis.

Kraujo baltymų pokyčiai iš dalies rodo bendrą baltymų apykaitą paukščių organizme. Tyrimų rezultatai parodė, kad per visą augimo laikotarpį bendrųjų baltymų kiekis viščiukų kraujo serume padidėjo bandomojoje grupėje. Bendrųjų baltymų gausėjimas siejamas su spartesniu viščiukų augimu.

Nustatyta, kad AST ir ALT aktyvumas kraujyje teikia informacijos apie kepenų, raumenų ir kitų organų funkcinę būklę (Žymantienė ir kt., 2010). Tai yra mažesnis kepenų oksidacinis pažeidimas.

Abbès ir kiti mokslininkai (2006) bei Mathur ir kt. (2001) atlikę bandymus nustatė, jog naudojant mikotoksinais užkrėstus lesalus, be adsorbento žymiai padidėja leukocitų, hematokrito, hemoglobinogama gliutamiltranspeptidazė, aspartataminotransferazė, o sumažėjo raudonųjų kraujo kūnelių. Mikotoksinų adsorbentai sumažino AST, GGT kiekį.

Sharma ir kiti mokslininkai (2008) nustatė, kad AST aktyvumas buvo padidėjęs jaunikliams, kurie su pašaru gavo fumonizinų. Panašūs rezultatai buvo pastebėti ir kitų mokslininkų (Shi et al., 2006; Gowda et al., 2008), o tai rodo, kad mikotoksinai daro tiesioginį toksinį poveikį gyvūnų kepenims. Adsorbentų naudojimas sumažina kraujo ir biocheminių rodiklių pokyčius, kepenų pažeidimus, adsorbentas iš dalies neutralizuoja toksinus (Bintvihok et al., 2002, 2003).

# IŠVADOS

1. Mūsų tyrimų duomenimis, lesinant broilerius su „Escent“ adsorbentu, bandomosios grupės broilerių dvylikapirštės žarnos gaurelių ilgis 8,2 proc. buvo didesnis nei kontrolinės, o kriptų gylis atvirkščiai - bandomosios grupės 16,0 proc. mažesnis nei kontrolinės.
2. Kraujo biocheminių tyrimų duomenimis naudojant mikotoksinų absorbentą „Escent“ gauti didesnis bendro baltymų, šlapimo rūgšties,alaninaminotransferazės, šarminė fosfatazės, bendro bilirubino, pankreatinės amilazės kiekiai nei kontrolinės grupės, kai tuo tarpu, asparagininės aminotransferazės, fosforo ir kalcio kiekiai bandomosios grupės rodikliai buvo mažesni.
3. Iš gautų kraujo biocheminių tyrimų, galima spręsti, kad naudojant „Escent“ adsorbentą vienodam mikotoksinų kiekiui lesaluose skirtingai įtakojo kraujo serumo rodiklius abiejose grupėse. Broilerių, kurie su pašaru gavo 1,5 kg/t „Escent“, kraujo serumo rodikliai, apibūdinantys broilerių kepenų ir kitų organų būklę, buvo geresni nei kontrolinės grupės broilerių.

# SUMMARY

The author of the work: Marija Tarvydaitė

Supervisor: assoc. prof. dr. Alius Pockevičius

This Master‘s Thesis was carried out in the period of 2011-2013 at the Pathology Center of the Veterinary Academy of the Lithuanian University of Health Sciences.

The content of the work: 38 pages. There are 7 tables, 8 pictures and 2 tables in appendix.

The aim of the study: To determine the effect of mycotoxin adsorbent „Escent“ blood biochemical parameters and performance of duodenal mucosa.

Main tasks:

* to determine the effect of the adsorbent on intestinal mucosa by means of histomorphometric analysis;
* to determine the effect of the absorbent on biochemical parameters of blood.

Results:

* the research determined a positive impact of adsorbent „Escent“ on broiler duodenum histomorphometrical indicators. The length of duodenal villous of broilers in the experimental group increased while the crypt depth decreased;
* Blood chemistry studies showed that use of mycotoxin absorbent „Escent“ resulted in a higher total protein, uric acid, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, total bilirubin, amylase pancreatin volumes than in the control group, whereas aspartate aminotransferase, phosphorus and calcium levels of the test group were lower.
* As a result, blood biochemical studies suggest that use of equal mycotoxin levels of „Escent“ absorber in feeds had a different influence on serum indicators in both groups. Serum indicators characterizing the state of broiler liver and other organs of chickens whose forage contained 1.5 kg / t „Escent“ was better than that of the control group.

# LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Abbès S. Z., Ouanes J., Salah-Abbes Z., Houas R., Oueslati H., Bacha O. The protective effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate against haematological, biochemical and pathological changes induced by Zearalenone in mice. Toxcion. 2006. 47 P. 567-574.
2. Alegakis A. K., Tsatsakis A. M., Shtilman M. I., Lysovenko D. L., Vlachonikolis I. G. Deactivation of mycotoxins. An in vitro study of zearalenone adsorption on new polymeric adsorbents. J. Environ. Sci. Health. 1999. 34 P. 633–644.
3. Aravind K. L., Patil V. S., Devegowda G., Umakantha B., Ganpule S. P. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. Poult. Sci. 2003. 82 P. 571-576.
4. Asao T., Buchi B., Abdel-Kader M. M., Chang S. B., Wick E. L. Aflatoxins, Am. Chem. Soc. 1964. 85 P. 1706–1707.
5. Awad W.A., Ghareeb K., Böhm J., Razzazi E., Hellweg P., Zentek J. The impact of the fusarium toxin deoxynivalenol (DON) on poultry. Int. J. Poult. Sci. 2008. 7 P. 827–842.
6. Awad W.A., Böhm J., Razzazi-Fazeli E., Zentek J. Effects of feeding deoxynivalenol contaminated wheat on growth performance, organ weights and histological parameters of intestine of broiler chickens. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2006. 90 P. 32–37.
7. Awad W. A., Böhm J., Razzazi-Fazeli E., Hulan H.W., Zentek J. Effects of deoxynivalenol on general performance and electrophysiological properties of intestinal mucosa of broiler chickens. Poult. Sci. 2004. 83 P. 1964–1972.
8. Bagdonavičius A. Mikotoksinų pavojus neperdėtas. Mano ūkis, 2003. 9.
9. Bakutis B. Mikotoksinai gyvulių pašaruose. Kaunas. Terra publica. 2004. P. 6–80.
10. Baliukonienė V. ,,Mikotoksinų kaupimosi pašaruose dėsningumai bei jų poveikis organizmui“,daktaro dizertacija, Biomedicinos mokslai, veterinarinė medicina (12B), Kaunas LVA 2007. P. 13.
11. Bennett J.W., Klich M. Mycotoxins. Clinical microbiology reviews. 2003.16 P. 497-516.
12. Berger U., Oehme M., Kuhn E. Quantitative determination and structure elucidation of type A- and B-trichothecenes by HPLC/iontrap multiple mass spectrometry. J. Agric. Food Chem. 1999. 47 P. 4240–4245.
13. Bintvihok A., Kositcharoenkul S. Aflatoxin B1 and its metabolites residues in tissues and fecal excretion levels of aflatoxin B1 and its metabolites of ducklings given feed containing aflatoxin and esterified glucomannan. Proceedings of the 11th International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians and OIE Seminar on Biotechnology (ISWAVLD). 2003. P. 104-105.
14. Bintvihok A., Bunlunara W., Kaewamatawong T. Aflatoxin detoxification by sterified glucomannans in ducklings. Thai. J. Health Res. 2002. 16 P. 135-148.
15. Burža P., Žentelytė L. Gyvulių fiziologija. Vilnius. Mokslas. 1983. P. 190–231.
16. Chowdhury S.R., Smith T.K., Boermans H.J., Sefton A.E., Downey R., Woodward B. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on performance, metabolism, hematology and immunocompetence of ducklings. Poult. Sci. 2005. 84 P. 1179–1185.
17. Casteel S.W., Rottinghouse G.E. Mycotoxicoses. Encycl.Microbiol. 2000. 3 P. 337–348.
18. Che Z., Liu Y., Wang H., Zhu H., Hou Y., Ding B. The Protective Effects of Different Mycotoxin Adsorbents against Blood and Liver Pathological Changes Induced by Mold-contaminated Feed in Broilers. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2011. 24 P. 250-257
19. Dänicke S, Matthes S, Halle I, Ueberschär KH, Döll S, Valenta H. Effects of graded levels of Fusarium toxin-contaminated wheat and of a detoxifying agent in broiler diets on performance, nutrient digestibility and blood chemical parameters. Journal Nutrition. 2003. 44(1) P. 113–32.
20. Dvorska J. E., Pappas A. C., Karadas B., Speake K., Surai P. F. Protective effect of modified glucomannans and organic selenium against antioxidant depletion in the chicken liver due to T-2 toxin-contaminated feed consumption. Comp. Biochem. Physiol. 2007. 45 P. 582-587.
21. D’Mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald A.M.C. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Anim. Feed Sci.Technol. 1999. 80 P. 183–205.
22. Eaton D. L., Groopman J.D. The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance.San Diego. Academic Press. 1994. P. 45–72.
23. Fernandez C., StackM. E., Musser S. M. Determination of deoxynivalenol in 1999 U. S. winter and spring wheat by high- performance thin- layer chromatography. Journal of AOAC international.1994. P. 628-630.
24. Girish C. K., Smith T. K., [Boermans H. J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Boermans%20HJ%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18281567)., [Karrow N. A](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Karrow%20NA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18281567). Effects of Feeding Blends of Grains Naturally Contaminated with Fusarium Mycotoxins on Small Intestinal Morphology of Turkeys. Department of Animal and Poultry Science. 2008. 87(3) P. 421-432.
25. Gowda N. K. S., Ledoux D. R., Rottinghaus G. E., Bermudez A. J., Chen Y. C. Efficacy of turmeric (*Curcuma longa*), containing a known level of curcumin, and a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of aflatoxin in broiler chicks. Poult. Sci. 2008. 87 P. 1125-1130.
26. Huwiga A., Freimunda S., Kappelib O., Dutlerb H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicology Letters. 2001. 122 P. 179–188.
27. Jocius G. Paukštininkystė. Vilnius. Mokslas. 1986. P. 5–6.
28. Juknevičius S., Tėvelis, V., Kulpys J. Brolerių auginimas. Kaunas. Judex. 2007.
29. Kučinskas V. Grūdų džiovinimas aktyviąja ventiliacija. Ūkiniko patarėjas, Liepos 24d. Nr. 1999. 84 P. 10.
30. Li M., Cuff C. F., Pestka J. Modulation of murine host response to enteric reovirus infection by trichothecene deoxynivalenol. Toxicol. Sci. 2005. 87 P. 134–145.
31. Mankevičienė A. Mikotoksinai rytdienos problema. Mano ūkis. Nr. 7, 2007. P. 30 – 32.
32. Mathur S., Constable P. D., Eppley R. M. Fumonisin B1 is hepatotoxic and nephrotoxic in milk-fed calves. Toxicol. Sci. 2000. 60 P. 385-396.
33. Mirocha C. J., Pawlosky R. A., Chatterjee K., Watson S., Hayes W. Analysis for Fusarium toxins in various samples implicated in biological warfare in Southeast Asia. Journal of the Association Off Analytical Chemists. 1983. 66 P. 99.
34. Pabijanskas A. Žemės ūkio gyvulių anatomija. Vilnius. 1967. P. 260–264.
35. Park J.J., Samalley E. B., Chu F.S. Natural occurrence of Fusarium mycotoxins in field samples from the 1996 Wisconsim corn crop. Applied and environmental microbiology 62. 1996. P. 1642 –1648.
36. Pavilionis A., Lavinskaitė A., Čerkašina I., Vaičiūvėnas V., Akromas L. Medicinos mikrobiologijos pagrindai. Kaunas. 2000. P.342-345.
37. Pestka J.J., Zhou H.R., Moon Y., Chung Y.J. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox. Toxicol. Lett. 2004. 153 P. 61–73.
38. Raila A., Lugauskas A., Steponavičius D., Railienė M., Steponavičienė A., Zvicevičius E. Application of ozone for reduction of mycological infection in wheat grain. Ann Agric Environ Med 2006, 13, P. 287 – 294.
39. Ramo A.J., Fink-Gremmels J., Hernandez E. Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. J. Food Prot. 1996. 59 P. 631–641.
40. Rotter B.A., Perlusky P. B., Pestka J.J. Toxicology of deoxynivalenol. Journal of toxicology and environmental health. 1996. P. 1-34.
41. Sergent T., Parys M., Garson S., Pussemier L., Schneider Y.J., Larondelle Y. Deoxynivalenol transport across human intestinal Caco-2 cells and its effects on cellular metabolism at realistic intestinal concentration. Toxicol. Lett. 2006. 164 P. 167–176.\
42. Sharma D., Asrani R. K., Ledoux D. R., Jindal N., Rottinghaus G. E., Gupta K. Indivi-dual and combined effects of fumonisin B1 and moniliformin on clinicopathological and cell-mediated immune response in Japanese quail. Poult. Sci. 2008. 87 P. 1039-1051.
43. Shi Y. H., Xu Z. R., Feng J. L., Wang C. Z. Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. Anim. Feed Sci. Technol.. 2006. 129 P. 138-148.
44. Steyn P.S., Stander M.A. Mycotoxins as causal factors of diseases in humans. J. Toxicol. Toxin Rev. 1999. 18 P. 229–243.
45. Whitaker T.B., Hagler W. M., Gresbrecht F. G., Johansson A. S. Sampling, sample preparation and analytical variability associated with testing wheat for ~~d~~. Journal of AOAC internation. 2000. 83 P. 1285-1292.
46. Wood G. E. Mycotoxins ~n foods and feeds in the United States. Anim Scl. 1992. 70 P. 3941-3949.
47. Wylhe T.D., Morehouse L.G. Mycotoxlc Fungi, Mycotoxms, Mycotoxlcoses, An Encyclopedic Handbook, vol 1. Mycotoxlc Fungi and Chemistry of Mycotoxlns. New York, NY, Marcel Dekker, 1997 Asquith RL: Mycotoxlcoses in horses, in Smith JE, Henderson RS(eds). Mycotoxms and Animal Foods. Boca Raton. FL, CRC Press. 1991. P. 679-688.
48. Zheng Z, Humphrey CW, King RS, Richard JL. Validation of an ELISA test kit for the detection of total Aﬂatoxins in grain and grain products. Mycopathologia. 2005. 159(2) P. 255–263.
49. Zheng Z, Ku S.T, Binder J. A. New AgraStrip TMTotal Aﬂatoxin Lateral Flow Test Kit. Poster Presentation in Gordon Research Conferences in Mycotoxins Phycotoxins.Waterville, ME, USA: Colby College. 2005. P. 19–24.
50. Žymantienė J., Juozaitienė V., Milius J., Sederevičius A., Oberauskas V., Juozaitis A., Šileika A., Kajokienė L. Karvių kraujo fermentų aktyvumo ir mineralinių medžiagų, pieno kieko bei sudėties koreliacija. Veterinarija ir zootechnika, 2010. T. 49 (71). P. 88–96.
51. Mikroorganizmai gyvulininkystės aplinkoje: ką reikėtų žinoti gaminant saugius pašarus ir lesalus / Stuogė, I. <http://agroakademija.lt/gyvulininkyste/veterinarija/?SId=679>. Prieiga per internet 2012-08-31.
52. Chickens - digestive system / Kent, P. http://www.daff.qld.gov.au/27\_2705.htm. Prieiga prie internetą 2012-08-24.
53. Biochemistries/ Hochleithner M. <http://www.harrisonsbirdfoods.com/avmed/ampa/11.pdf> Prieiga per internet 2012-06-01.

# Priedai

1 lentelė. **Lesinimo schema.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Grupė** | **Broilerių skaičius** | **Grupės paskirtis** | **Kombinuoti lesalai** | **„Escent“ preparatas (1,5 kg/t)** |
| 1 | 22000 | Kontrolinė | K1, K2, K3, K4 | - |
| 2 | 22000 | Bandomoji | K1, K2, K3, K4 | + |

2 lentelė. **Kombinuotieji lesalai**

|  |  |
| --- | --- |
| **Numeris** | **Pašaras** |
| K1. | Kombinuotasis pašaras. Prestartinis 0- 11 d. |
| K2. | Kombinuotasis pašaras.Startinis 11-24 d. |
| K3. | Kombinuotasis pašaras.Finišinis Nuo 35 d. |
| K4. | Kombinuotasis pašaras.Tarpinis 25-35 d. |