

MEDYCyna WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POŚWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA, prof. dr Jerzy MAZURCZAK,
prof. dr Abdon STRYSZAK, doc. dr Stanisław WOŁOSZYN.

Sekretarz naukowy: dr Ryszard SŁUŻEWSKI

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr Henryk BALBIERZ, prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, prof. dr Roman HOPPE, prof. dr Tadeusz JASTRZĘBSKI, prof. dr Lech JAŚKOWSKI, płk doc. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Wincenty PEZACKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Eugeniusz ŻARNOWSKI

PROFILAKTYKA I HIGIENA PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

TEODOR JUSZKIEWICZ, JADWIGA PISKORSKA-PLISZCZYŃSKA

Zawartość mikotoksyn w przemysłowych mieszankach i koncentratkach paszowych

Z Zakładu Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Mikotoksyny są produktami przemiany materii wielu gatunków grzybów niższych (pleśni). Oblicza się, że około 120 gatunków pleśni wytwarza toksyczne substancje. Lista poznanych toksyn grzybowych jest dość długa i obejmuje kilkadziesiąt związków. W sprzyjających warunkach pleśnie mogą rosnąć i wytwarzać toksyny na różnych substancjach. Większość mikotoksyn jest oporna na działanie czynników fizycznych i chemicznych i nie ulega rozkładowi w procesach technologicznych. Spośród wielu toksycznych metabolitów pleśni, szczególne znaczenie patogeniczne dla zwierząt hodowlanych i ludzi posiadają stwierdzone w zbożach i paszach aflatoksyny, ochratoksyny, sterygmatocystyna, zearalenon i rubratoksyna (1, 2, 3, 6, 7, 13, 16).

W pracy poprzedniej przedstawiono wyniki badań nad stopniem skażenia mikotoksynami śrut zbożowych przeznaczonych na paszę dla zwierząt (6). Obecne badania poświęcone zostały z kolei analizie stanu skażenia mikotoksynami mieszanek i koncentratów paszowych produkowanych w naszym kraju.

Materiał i metody

Do badań otrzymano próbki wyprodukowanych w kraju w lutym 1976 r. mieszanek i koncentratów paszowych dla drobiu, trzody i bydła. Spośród 625 próbek wybrano losowo do analizy 203 mieszanki i 31 koncentratów białkowych, pochodzących z wytwórni pasz rozlokowanych na terenie wszystkich województw kraju. Otrzymany materiał przechowywano do czasu analizy w chłodni w temperaturze $+2^{\circ}\text{C}$.

Zawartość aflatoksyn, ochratoksyn, sterygmatocystyny i zearalenonu oznaczano zmodyfikowaną metodą chromatografii cienkwarstwowej wg Stoloffa i wsp. (15), którą na podstawie wcześniejszych prac własnych wybrano spośród dostępnych metod analizy wieloskładnikowej. W metodzie Stoloffa zastosowano własne modyfikacje, mające na celu zwiększenie jej przydatności do analiz rutynowych (11).

W celu zwiększenia czystości uzyskiwanych ekstraktów wprowadzono dla oznaczania aflatoksyn oczyszczanie na kolumnach chromatograficznych, wypełnionych żelalem krzemionkowym o granulacji 0,05–0,2 mm. W celu obniżenia kosztów analizy drogi Adsorbosil-1 zastąpiono tańszym żelalem krzemionkowym H do chromatografii cienkwarstwowej, dla którego doświadczalnie dobrano optymalny układ rozwijający. Wszystkie próbki pozytywne analizowano ponownie według metod specyficznych dla poszczególnych związków i stosowano testy potwierdzające (8, 9, 10, 12, 14). Zastosowane procedury i posiadane wzorce analityczne po-

zwały identyfikować i następnie ilościowo oznaczyć 5 µg aflatoksyny B₁ i podobne stężenia aflatoksyn B₂, G₁, G₂, 10 µg ochratoksyny A lub B, 30 µg sterygmatozystyny i 50 µg zearalenonu w 1 kg mieszanki paszowej. Do oznaczeń ilościowych stosowano równolegle ocenę wizualną i instrumentalną z zastosowaniem densytometru TLD 100 z integrującym rejestratorem UR-402 firmy Vitatron (Holandia).

20 µg/kg i w 1 próbce (2%) ochratoksynę A również w stężeniu 20 µg/kg. Znacznie wyższy odsetek (19%) skażenia aflatoksynami stwierdzono w próbkach mieszanek dla bydła, chociaż w żadnej z próbek nie stwierdzono stężeń aflatoksyny B₁ powyżej poziomu 20 µg/kg. Naj-

Tab. 1. Zestawienie liczbowe próbek mieszanek paszowych, w których stwierdzono metodą chromatografii cienkowarstwowej fluorescencją (F) mikotoksyn i próbek, w których obecność mikotoksyn potwierdzono testami chemicznymi (C)

Mieszanki		Próbki badanych	Aflatoksyny			Ochratoksyny		Sterygmatozystyna		Zearalenon	
			F	C	> 50 µg/kg	F	C	F	C	F	C
Drob	DK	21	8	1	0	3	0	1	0	7	0
	DKA - start	10	2	0	0	3	0	0	0	3	0
	DKA - fin.	11	7	1	0	3	0	0	0	0	0
	DH	12	0	0	0	1	1	0	0	3	0
Bydło	C	29	15	7	0	5	0	2	0	8	1**
	B	30	23	4	0	5	1	4	0	2	0
Trzoda	P	13	1	1	0	3	0	0	0	0	0
	T	47	21	6	3	7	7	0	0	1	0
	L	30	16	7	6	12	1	1	0	3	0
Razem		203	93	27	9	42	10*	8	0	27	1
%		100	46	13	4	21	5	4	0	13	0,5

Objaśnienia: * — stężenia ochratoksyn A+B w zakresie 10–50 µg/kg, ** — 70 µg/kg.

Wyniki i omówienie

Wyniki analizy 203 próbek mieszanek paszowych przedstawiono w tab. 1, a 31 próbek koncentratów białkowych w tab. 2. W żadnej z badanych próbek nie znaleziono sterygmatozystyny, a tylko w jednej (mieszanka paszowa C) stwierdzono obecność zearalenonu w stężeniu 70 µg/kg. W analizowanych 31 próbkach koncentratów paszowych nie wykazano także obecności ochratoksyn. Mikotoksyny te stwierdzone zostały jednakże w 5% badanych próbek mieszanek paszowych. Stężenia ochratoksyn były niskie (10–50 µg/kg) i nie posiadały znaczenia toksykologicznego. Należałoby tu podkreślić pewną zbieżność wyników analizy mieszanek paszowych z wynikami analizy zbóż paszowych, które opisano w pracy poprzedniej (6). Wykazano wówczas, że około 5% próbek zbóż zawierało ochratoksyny w stężeniach wahających się w zakresie 50–200 µg/kg. Wydaje się, że zasadniczym źródłem ochratoksyn w naszych mieszankach paszowych są właśnie zboża, co może mieć dość istotne znaczenie przy szukaniu przyczyny lub zapobieganiu skażeniu pasz tymi mikotoksynami.

Obecność aflatoksyn wykazano w 27 próbkach (13%) mieszanek paszowych. Z tej liczby jednak jedynie 6 próbek (3%) posiadało stężenia aflatoksyny B₁ wyższe od 50 µg/kg, a w 9 próbkach (4%) suma stężeń 4 badanych mikotoksyn (B₁ + B₂ + G₁ + G₂) przekraczała tę wartość. Najmniej skażone mikotoksynami okazały się mieszanki paszowe dla drobiu — na 54 próbki wzięte do analiz w 2 próbkach (4%) znaleziono aflatoksynę B₁ w stężeniach poniżej

bardziej skażone mikotoksynami były mieszanki T i L dla trzody. Mieszanki P dla prosiąt stanowiły w tej grupie pasz wyjątek, ponieważ na 13 badanych próbek tylko w jednej wykazano obecność aflatoksyny B₁ i to w stężeniu 10 µg/kg. Natomiast w grupie 77 próbek mieszanek T i L dla tuczników i loch 17% próbek zawierało aflatoksyny i 13% próbek ochratoksyny. Stężenia ochratoksyn były niskie, natomiast stężenia aflatoksyn w większości pasz skażonych przekraczały poziom 200 µg/kg, a w jednej mieszance L stwierdzono aflatoksyny (B₁ + B₂) w stężeniu 652 µg/kg.

Tab. 2. Zestawienie liczbowe próbek koncentratów paszowych, w których stwierdzono fluorescencją (F) mikotoksyn i próbek, w których obecność aflatoksyn (B₁+B₂+G₁+G₂) potwierdzono testami chemicznymi (C) i określono ilościowo; w żadnej z próbek nie wykazano obecności ochratoksyn, sterygmatozystyny i zearalenonu

Koncentrat	Próbki badanych	F		Stężenie aflatoksyn w µg/kg				
		F	C	5-100	101-200	201-300	301-500	> 500
T	11	11	4	1	0	1	1	1
Prowit	20	17	15	11	2	1	1	0
Razem	31	28	19	12	2	2	2	1
%	100	90	61	39	6	6	6	3

Skażenia aflatoksynami koncentratów białkowych T i Prowit przedstawiono w tab. 2. W większości badanych próbek koncentratów paszowych stężenia aflatoksyny B₁, podobnie jak i stężenia sumy wszystkich aflatoksyn, wahały się w zakresie 10–100 µg/kg. Około 23% próbek badanych koncentratów zawierało większe ilości aflatoksyn (100–500 µg/kg), a najwyższe stwierdzone stężenie aflatoksyn (B₁ + B₂) wy-

nosiło 1140 µg/kg. Jak wynika z piśmiennictwa i wieloletnich prac analitycznych prowadzonych przez autorów, głównym źródłem aflatoksyn w krajowych koncentratkach i mieszankach paszowych są pierwotnie skażone poekstrakcyjne śrutki arachidowe (a w mniejszym znacznie stopniu również bawelniane i sojowe). Fakt ten pozwala w oparciu o analizę laboratoryjną dość skutecznie zapobiegać tworzeniu się wysokich, toksycznych stężeń mikotoksyn w mieszankach paszowych.

W pracy poprzedniej (6) zwrócono uwagę na możliwość popełniania błędów przy wykrywaniu mikotoksyn w zbożach, na skutek występowania w chromatogramach plam fluoryzujących podobnie jak mikotoksyny i o zbliżonych do nich wartościach R_f . Również w tej pracy, po przeprowadzeniu chemicznych testów potwierdzających, z liczby pasz uznanych za skażone na podstawie wstępnej analizy, należało wykluczyć w 66 mieszankach i 9 koncentratkach obecność aflatoksyn, w 32 mieszankach obecność ochratoksyn, w 8 sterygmatocystyny i w 27 zearalenonu (tab. 1). Fakty te wskazują na potrzebę stosowania chemicznych testów potwierdzających w każdym przypadku stwierdzenia mikotoksyn w paszach, zwłaszcza przy stosowaniu w analizie laboratoryjnej uproszczonych metod orientacyjnych. W związku z tym wydaje się również, że w przypadku skażeń pasz i żywności mikotoksynami, podobnie jak też w przypadku chemicznych pozostałości innych związków toksycznych, zezwolenie na wydawanie świadectw i opinii powinny mieć tylko laboratoria doświadczalne, odpowiednio wyposażone i sprawdzone w badaniach międzylaboratoryjnych.

Stwierdzone w tej pracy skażenia mikotoksynami mieszanek i koncentratów nie budzą szczególniejszych obaw toksykologicznych, chociaż niewątpliwie wskazują na potrzebę baczniejszego śledzenia problemu mikotoksykologicznego i stałej jego kontroli analitycznej. Wydaje się, że w oparciu o przedstawione w tej pracy dane, jak również o dostępne materiały z innych krajów, można zaproponować (do rozważenia odpowiednim władzom administracyjnym) wartość 20 µg/kg jako najwyższe dopuszczalne stężenie aflatoksyny B_1 (ewentualnie 30 µg/kg jako suma $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) w paszach przemysłowych dla drobiu dorosłego a 50 µg/kg (ewentualnie 70 µg/kg jako suma $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) dla pozostałych dorosłych zwierząt. Zgodnie z intencją przyjętych dotychczas przez Ministerstwo Rolnictwa zasad, pasze dla cieląt, prosiąt, kurcząt oraz innego ptactwa domowego do 30 dnia życia, pszczoł, troci i zwierząt laboratoryjnych nie powinny zawierać aflatoksyn w stężeniu powyżej 5 µg/kg.

Wydaje się, że jest jeszcze za wcześnie na podobne propozycje w stosunku do ochratoksyny, sterygmatocystyny i zearalenonu ze względu na zbyt małą liczbę prac na temat właściwości chorobotwórczych tych mikotoksyn i ich

występowania w paszach i żywności. Uzyskane w tej pracy wyniki nad stopniem skażenia ochratoksyną, sterygmatocystyną i zearalenonem mieszanek paszowych oraz dane z pracy poprzedniej, które obrazują skażenie zbóż, stwarzają jedynie podstawy do wstępnych uogólnień i dalszych badań.

Piśmiennictwo

1. Anderson H. W., Nehring E. W., Wichser W. R.: J. Agric. Food Chem. 23, 775, 1975.
2. Bryden W. L., Razion M. A., Lloyd A. B., Cumming R. B.: Austr. Vet. J. 51, 491, 1975.
3. Gedek B. R., Kahlau D.: Zbl. Vet. Med. B, 23, 216, 1976.
4. Hesseltine C. W.: Mycopath. Mycol. Appl. 53, 14, 1974.
5. Juszkiewicz T., Piskorska-Pliszczynska J., Cybulski W.: IUPAC Symposium: Mycotoxins in Food. Puławy 1974.
6. Juszkiewicz T., Piskorska-Pliszczynska J.: Medycyna Wet. 32, 617, 1976.
7. Krogh P., Hald B., Englund P., Rutqvist L., Swahn O.: Acta Path. Microb. Scand. B, 82, 301, 1974.
8. Mirocha C. J., Schauerhamer B., Pathre S. V.: JAOAC 57, 1104, 1974.
9. Nesheim S., Hardin N. F., Francis O. J., Langham W. S.: JAOAC 56, 817, 1973.
10. Official Methods of Analysis, 11th Ed., Secs 26.001—26.020, AOAC, Washington D.C., 1970.
11. Piskorska-Pliszczynska J., Juszkiewicz T.: Annal. Nutr. Alim. (w druku).
12. Przybylski W.: JAOAC 58, 163, 1975.
13. Scott P. M., Walbeek van W., Harwig J., Fennell D. I.: Can. J. Plant Sci. 50, 583, 1970.
14. Stack M., Rodricks J. V.: JAOAC 54, 86, 1971.
15. Stoloj L., Nesheim S., Yin L., Rodricks J. V., Stack M., Campbell A. D.: JAOAC 54, 91, 1971.
16. Szrelecki E. L., Gąsiorowska U. W.: Zbl. Vet. Med. B, 21, 395, 1974.

Adres autora: prof. dr Teodor Juszkiewicz, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Podziękowanie. Dyrekcjom Zjednoczenia Przemysłu Paszowego „Bacutil” i CRS „Samopomoc Chłopska” oraz pracownikom podległych im Wytwórni Pasz autorzy składają serdeczne podziękowanie za bardzo przychylnie ustosunkowanie się do podjętych badań, sprawne i dokładne pobranie próbek oraz dostarczenie ich w terminie do analizy.

Юшкевич Т., Пискорска-Плищиньска Я. — Содержание микотоксинов в промышленных кормовых смесях и концентратах.

Из кормовых заводов всех воеводств стороны получили 625 проб кормовых смесей и концентратов произведенных в феврале 1976 г. Исследовали 203 пробы кормовых смесей и 31 проб концентратов на содержание афлатоксина, ochratоксина, стеригматоцистина и зearаленона. Все пробы исследовали многоэлементным методом; положительные результаты анализа подтверждали специфическими методами для отдельных микотоксинов и соответственными химическими тестами.

Присутствие афлатоксина обнаружили в 13% проб кормовых смесей; в 3% проб концентрация афлатоксина B_1 превышала 50 µg/kg. Ochratоксин установили в 5% проб в концентрациях 10—50 µg/kg, а зearаленон в 0,5% проб в концентрации 70 µg/kg. Кормовые смеси для домашних птиц практически почти совсем не содержали микотоксинов. В 61% проб кормовых концентратов для свиней обнаружили присутствие афлатоксина причем в 23% проб концентрация афлатоксина равнялась 100—500 µg/kg, а в одной превышала этот предел. Авторы приходят к выводу, что хотя эту ситуацию можно считать удовлетворяющей, надо вести постоянный микотоксикологический контроль кормовых смесей.

Juszkiewicz T., Piskorska-Pliszczynska J. — Occurrence of mycotoxins in mixed feeds and concentrates.

A total of 625 samples of mixed feeds and concentrates were collected from February 1976 production of commercial feed processing plants situated in the all provinces of Poland. For the mycotoxin survey, performed by the multimycotoxin detection method, 203 samples of mixed feeds and 31 samples of concentrates were chosen at random. The positive samples

for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂, ochratoxins A and B, sterigmatocystin and zearalenone were analyzed for the second time by the methods for specific mycotoxins and chemical confirmatory tests.

Aflatoxins were found to be present in 13% of mixed feeds samples and in 3% of samples concentration of aflatoxin B₁ was above 50 µg/kg. Five per cent of samples contained ochratoxins in range of 10–50

µg/kg and one sample (0,5%) contained 70 µg/kg of zearalenone. Feeds for poultry were practically free of mycotoxins. Out of 31 samples of concentrated feeds 61% contained aflatoxins — 23% of them reached concentration of 100–500 µg/kg and one even exceeded that level. Though the found situation was rather satisfactory, the permanent mycotoxicological control of animal feeds seems to be unavoidable.

JAN BIJCZEK

Profilaktyka enzootycznej bronchopneumonii cieląt - badania terenowe*)

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Liczne publikacje (1–15) omawiające metody i środki profilaktyki enzootycznych chorób cieląt i młodego bydła wskazują, że zagadnienie to w wielu krajach przedstawia dużą wartość praktyczną. Proponowane rozwiązania dostosowuje się do możliwości technicznych, warunków środowiska, stopnia zdobytego przez hodowców doświadczenia i wreszcie aktualnego stanu wiedzy, dotyczącej czynników etiologicznych schorzenia.

W związku z rozwojem wielkostadnej hodowli cieląt i młodego bydła w Polsce, straty z powodu enzootycznych chorób mają dość istotne znaczenie dla wyników w tej gałęzi hodowli. Celem badań było wprowadzenie do ferm hodowlanych w Polsce praktycznych rozwiązań organizacyjnych, środków profilaktycznych, metod postępowania hodowców oraz służby weterynaryjnej, w celu zmniejszenia strat z powodu enzootycznej bronchopneumonii cieląt. Jak wynika z obserwacji, ta jednostka chorobowa, podobnie jak i w innych krajach, występuje w Polsce najczęściej. Praca stanowi pierwszy etap badań nad skutecznością zaproponowanych metod i środków profilaktycznych w 3 fermach odchowu cieląt.

Materiał i metody

Przedmiotem badań były cielęta pochodzące z drobnych gospodarstw z różnych rejonów kraju, a gromadzone w dużych wychowalniach dla dalszego chowu. Waga cieląt w dniu zakupu wahała się w granicach 60–80 kg, wiek 4–6 tygodni.

Do nowych miejsc wychowu cielęta dowożono transportem samochodowym z odległości około 50–300 km. Czas przebywania zwierząt w bazach przejściowych od chwili zakupu do wyładunku w ośrodku hodowlanym — od kilkunastu godzin do trzech dni. Badania przeprowadzono w trzech gospodarstwach hodowlanych o różnym standardzie zoohigienicznym.

Gospodarstwo I

Pomieszczenia adaptowane doraźnie do wychowu cieląt nie prezentowały wysokich walorów użytkowych i zoohigienicznych. W gospodarstwie tym wykonano 3 doświadczenia, każde w innym obiekcie. W doświadczeniu 1 zwierzęta przebywały w kłatkach po 10–15 sztuk, w doświadczeniu 2 cielęta były związane na stanowiskach, w doświadczeniu 3 cielęta tworzyły dwie grupy. Przez cały okres wychowu cielęta nie korzystały z wybiegów. Doświadczenia 1 i 2 przeprowadzono w miesiącach — lipiec — wrzesień, 3 w miesiącach maj — lipiec. Ilość cieląt objętych doświadczeniem oraz uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 1.

Gospodarstwo II

Fermę hodowlaną tworzył w zasadzie zespół 3 drewnianych budynków, ocieplonych watą mineral-

Tab. 1. Straty cieląt objętych profilaktyką — gospodarstwo I

Dośw. nr	Liczba wprowadzonych cieląt	Kontrola (K)	Doświadczenie (D) sur. + szczep. PI-3	Zachorowało		Padło		Selekcja		Dobowe przyrosty wagowe w kolejnych miesiącach					
				K	D	K	D	K	D	I			II		III
										K	D	K	D	K	D
1	103	25	78	25	2	2	0	0	0	320	320	300	360	310	240
										610	790	670	780	615	715
										680	910	640	870	620	820
2	260	216	44	216	1	5	0	10	0	200	210	215	320	210	230
										620	710	600	700	580	720
										700	840	680	860	640	640
3	180	50	130	50	10	2	0	3	0	630	780	620	780	620	800
1+2+3	543	291	252	291	13	9	0	13	0	620	760	630	755	603	745

*) Praca finansowana częściowo z problemu resortowego 421, poz. 1.3. Instytutu Weterynarii w Puławach.