

ГЛАВА 4

МИКОТОКСИНЫ, МИКОТОКСИКОЗЫ И ОТРАВЛЕНИЯ ГРИБАМИ

АКТУАЛЬНОСТЬ ИЗУЧЕНИЯ ПРОБЛЕМЫ ОХРАТОКСИКОЗА В РОССИИ

Буркин А. А., Кононенко Г. П., Кислякова О. С.
Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН
Москва

Метаболит плесенеобразующих грибов — охратоксин А — широко известен как один из наиболее опасных и распространенных контаминантов пищевых продуктов и кормов. Попадая в организм, этот токсин вызывает серьезные нарушения основных биохимических процессов, глубокие патологические изменения внутренних органов, главным образом, почек и печени, а также обладает тератогенным, канцерогенным и иммунодепрессивным действием.

Грибы, способные продуцировать охратоксин А, были выделены зарубежными исследователями из самых различных объектов (кукуруза, пшеница, овес, ячмень, рожь, зерна кофе) и отнесены к 5 видам — *Aspergillus ochraceus*, *A. melleus*, *A. sulphureus*, *A. petrakii* и *Penicillium viridicatum*. Коллекционные штаммы продуцентов представлены двумя видами (*Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum*) и депонированы в коллекциях АТСС, NRRL и СМІ. По обобщенным статистическим данным в европейских странах, Канаде, США контаминация зерна охратоксином характеризуется диапазоном содержаний от 5 до 360 мкг/кг и частотой около 5%.

Целью данной работы было изучение способности к токсинообразованию у изолятов *Penicillium sp.*, морфологически близких виду *P. viridicatum*, и *Aspergillus ochraceus*, выделенных из зерновых объектов на территории нашей страны, а также проведение мониторинговых исследований контаминации охратоксином А зерна колосовых культур (пшеница, ячмень, овес, рожь), отобранного на 21 территории Уральского, Западно-Сибирского, Восточно-Сибирского, Дальневосточного регионов и в Курской области в период с 1995 по 2002 гг.

Всего в работе использовали 13 изолятов *Aspergillus ochraceus* и 40 изолятов *Penicillium sp.* Выращивание проводили при +25° С в течение 14 суток в микологических пробирках вместимостью 50 мл, содержащих по 5,0 г риса и 2,0 мл воды, добавленной перед автоклавированием. Для инокуляции использовали по 0,25 мл гомогенной взвеси 7-10-суточной культуры гриба на агаре Чапека в 0,01 %-ном водном растворе твина 20. По окончании культивирования образцы мицелиально-зерновой биомассы гомогенизировали с 10 мл смеси ацетонитрил — вода (6:1), выдерживали 14 часов при комнатной температуре, вновь интенсивно перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр. Полученные экстракты анализировали на содержание охратоксина А методами ИФА и комбинированной ТСХ- флуориметрии.

Изучение токсинообразования показало, что все изоляты *Aspergillus ochraceus* способны к биосинтезу охратоксина А. Два из них образовывали

токсин в количествах 48,6 и 98,0 мг/кг. Первый — *A. ochraceus* № 343-4/36 — был выделен в 1995 году из комбинированных кормов с достаточно высоким уровнем загрязнения 0,4 мг/кг. Из богатой по видовому составу микрофлоры этого образца, наряду с ним, было выделено еще 9 изолятов *Penicillium sp.*, различных по культуральным признакам, но продуцентов среди них не оказалось. Второй — *A. ochraceus* № 136, был получен в 1978 году из образца зерновой смеси, который, к сожалению, не удалось проверить на загрязненность охратоксином А. Остальные 11 изолятов из 13 изученных оказались слаботоксигенными — количество токсина в мицелиально-зерновой биомассе составило всего 0,04-1,0 мг/кг.

Все изоляты *Penicillium sp.* были выделены из образцов, в которых предварительно было обнаружено присутствие охратоксина А. При выделении их учитывали два культуральных признака — цвет мицелия (серый, голубой или зеленый) с учетом оттенков и пигментации, а также характер роста мицелия гриба (высокий, низкий, пушистый, гладкий). Способность к образованию токсина была установлена только для 5 изолятов, которые имели мицелий зеленого цвета и различались по форме роста. По предварительной оценке все они относятся к виду *P. viridicatum*. Уровни токсинообразования от 0,06 до 2,4 мг/кг, показанные этими изолятами в эксперименте, были гораздо ниже, чем у депонированных продуцентов этого вида. Однако, следует иметь в виду, что для *P. viridicatum* известно благоприятное воздействие контрастных режимов выращивания при низких температурах на процесс токсинообразования. Возможно, применение таких приемов позволит точнее выяснить свойства этих продуцентов.

Таким образом, способность образовывать охратоксин А на зерновом субстрате была установлена для всех исследованных изолятов вида *A. ochraceus* и для всех изолятов *Penicillium sp.* с культуральными признаками, свойственными *P. viridicatum*. Уровень токсинообразования у большинства грибов-продуцентов (16 из 18 изученных) был низким, находился в диапазоне от 0,04 до 2,4 мг/кг и только два изолята *A. ochraceus* ВНИИВСГЭ № 343 — 4/36 и *A. ochraceus* ВНИИВСГЭ № 173 показали выраженную продуцирующую способность.

Мониторинговые исследования по 4-м регионам были выполнены на 623 образцах зерна методом ИФА. Контаминированные пробы зерна были выявлены на 9 территориях из 21 обследованной — в Башкортостане и Челябинской области (Уральский регион), в Кемеровской и Новосибирской областях (Западно-Сибирский регион), в Красноярском крае и Читинской области (Восточно-Сибирский регион), в Амурской области, Еврейской автономной области и в Приморском крае (Дальневосточный регион). Охратоксин А был обнаружен в 21 пробе из 623, т. е. в 3,4% случаев с диапазоном содержаний от 3,0 до 292,0 мкг/кг.

Данные аналитических обследований 50 проб зерна урожая 1995-96 гг., произведенного в 9 районах Курской области, показали, что частота обнаружения токсина является весьма значительной и составляет в среднем 34,0%. Кроме того, сверхвысокие уровни содержания токсина 440, 660 и 3250 мкг/кг были обнаружены в пробах от товарных партий фуражного ячменя, вызвав-

ших острую интоксикацию животных в ряде хозяйств Курской и Орловской областей. Потребление таких кормов могло приводить к накоплению токсина в мышечных тканях животных и контаминации товарной продукции. Все эти данные определенно указывали на возможность существования очага значительной распространенности охратоксина А в Центрально-черноземном регионе страны.

Исследования, проведенные в рамках данной работы, имели, безусловно, ограниченные масштабы, и их результаты не позволяют делать какие-либо выводы о сравнении степени риска загрязнения зерна охратоксином А по территории страны в целом. Однако установленные случаи высоких уровней контаминации и значительной распространенности токсина на отдельных территориях дают все основания считать проблему изучения охратоксикоза в России крайне актуальной.

Экспрессные методы анализа, один из вариантов которых использован в данной работе, уже сейчас позволяют приступить и в кратчайшие сроки выполнить развернутые мониторинговые исследования с целью получения достоверного экспериментального материала, необходимого для организации полного комплекса мероприятий по обеспечению безопасности зерновой и животноводческой продукции в стране.

МИКОТОКСИНЫ КАК ИСТОЧНИК ПОЛУЧЕНИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ ИММУНОРЕАГЕНТОВ

Буркин А. А., Кононенко Г. П.

*Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН
Москва*

Иммуноферментный анализ (ИФА) в последние годы зарекомендовал себя как перспективный метод исследования многих физиологически активных соединений. Экспрессность выполнения (от нескольких минут до 3 часов), возможность одновременного испытания десятков образцов, дешевизна (2,5-5,9% от стоимости хроматографического определения), высокая чувствительность (миллиардные доли в объекте), специфичность и безопасность для оператора обеспечили ему широкое внедрение в практику.

В нашей стране начато и в основном завершено развитие методов иммунохимического анализа микотоксинов, имеющих приоритетное санитарно-экологическое значение. Получение аналитических иммунореагентов с заданной специфичностью предполагало использование гаптенных структур, структура которых наиболее полно сохраняет адекватность пространственного образа исходного вещества, и выбор таких способов связывания, которые были способны обеспечить однозначную и целесообразную ориентацию гаптенных на макроносителях.

Для группы микотоксинов, молекулы которых не имеют фрагментов для прямого взаимодействия с белками, был осуществлен направленный синтез гаптен-соединений с использованием реакций ацилирования ангидридами двухосновных кислот (трихотецены), карбоксиметилирования аминоксиуксусной кислотой (афлатоксин В₁, зеараленон) и каталитическая гидратация с целью получения циклических гемиацеталей (стеригматоцистин).

На основе белковых конъюгатов 3-гемисукцината и 3-гемиглутарата Т-2 токсина были созданы тест-системы с разной способностью к узнаванию Т-2 токсина и НТ-2, его ближайшего структурного аналога и основного метаболита в организме теплокровных. Использование 15-гемисукцината 3-ацетил-4-дезоксиниваленола позволило получить антитела, специфичные к 3,15-диацилзамещенным 4-дезоксиниваленола, и создать для 8-оксотрихотеценов групповой анализ.

В случае макроциклического трихотецена роридина А, продукт реакции которого с янтарным ангидридом по данным масс-спектров является дисукцинатом, конъюгирование с бычьим сывороточным альбумином методом активированных эфиров оказалось вполне успешным и привело к получению высокоспецифичных антител, которые в сочетании с иммобилизованным иммуногеном обеспечивали конкурентный анализ с чувствительностью 10 мкг/кг. Перекрестная реактивность с веррукарином А составила всего 3%.

После превращения афлатоксина В₁ в 3-карбоксиметилосим был синтезирован ряд конъюгированных антигенов, детерминированных эти производным. Полученные поликлональные антитела позволили в конечном итоге создать специфичный анализ афлатоксина В₁ с низкой перекрестной реактивностью к афлатоксинам В₂, G₁, G₂, M₁, В_{2a}, G_{2a}, стеригматоцистину и чувствительностью 2,0 мкг/кг.

Единственным возможным путем для создания высокоспецифичного ИФА стеригматоцистина могло быть получение иммуногена и твердофазных антигенов на основе гемиацетала этого микотоксина. Действительно, у таких антител практически отсутствовала способность к узнаванию афлатоксинов.

Получение иммунореагентов для группы циклических лактонов в-резорциловой кислоты, к которой относится зеараленон, представляло особенно сложную задачу в связи с реальной возможностью присутствия в объектах его структурных аналогов — б-зеараленола, б-зеараланола и зеараланола, один из которых является биосинтетически связанными метаболитом грибов и продуктом ферментативной трансформации в организме животных и человека, а другие представляют группу полусинтетических препаратов анаболического действия, широко используемых в практике, и продукты их метаболизации в организме. Применение всех этих соединений для синтеза гаптен-соединений обеспечило создание целой панели тест-систем с различной чувствительностью и специфичностью, пригодных для эф-

фективного и многоцелевого контроля не только зеараленона, но и всех его аналогов.

Для зеараленона были реализованы два подхода к получению иммунореагентов — через гаптен в виде 6'-карбоксиметил оксимного производного и отличный от традиционных, принципиально новый прием, состоящий в прямом связывании молекулы токсина с белком в условиях формальдегидной конденсации. Именно этот подход позволил получить антитела с исключительной специфичностью, по-видимому, из-за двухстадийного механизма реакции с промежуточным образованием формильных замещенных по активным атомам водорода ароматического кольца молекулы токсина. В этом варианте анализа перекрестная реактивность с б-зеараленолом составила всего 0,15%.

Для трех микотоксинов (охратоксин А, фумонизин В₁, РR-токсин) было возможным связывание с макромолекулами без предварительной модификации. Конъюгирование охратоксина А с альбуминами и желатином осуществляли по карбоксильной группе остатка фенилаланина, входящего в его структуру, как методом карбодиимидной конденсации, так и через получение активированного эфира. Комбинирование реагентов, полученных в разных условиях, позволило повысить чувствительность анализа до 4,0 мкг/кг и сделало возможным определение токсина в биологических жидкостях и тканях животных, потреблявших рационы с низкими уровнями контаминации.

Принципиально важным при создании системы детектирования охратоксина А было устранение эффекта неспецифического связывания с белками. Известно, что охратоксин А имеет относительно высокий аффинитет к сывороточным альбуминам и способен к сорбции на белках сыворотки крови и на альбуминах, входящих в состав буферных растворов. Действительно при испытаниях иммунореагентов в конкурентных исследованиях оказалось, что торможение связывания антител с твердофазными антигенами свободным охратоксином А крайне затруднено, и эффект удается наблюдать только в растворах с концентрациями более 10 мкг/мл. Антитела были способны распознавать токсин, но в системе явно действовали препятствия для ее нормального функционирования. Для устранения неспецифического связывания нами была опробована 0,1%-ная добавка аммониевой соли 8-анилин-1-нафталинсульфоната в буферный раствор, предназначенный для растворения антител. Результаты показали, что в этих условиях торможение становится отчетливым от концентраций на два порядка меньших, чем без деблокирующего агента. Из всех твердофазных антигенов, испытанных в этих условиях, конъюгат охратоксина А с желатином обеспечивал наилучший эффект торможения и был выбран для анализа.

Для фумонизина В₁, который является полифункциональным гаптеном и имеет свободные карбоксильные и аминогруппы, было осуществлено несколько альтернативных подходов к получению конъюгированных анти-

генов с использованием альбуминов, столбнячного анатоксина и пероксидазы хрена. Из-за отсутствия других фумонизинов оценить внутригрупповую специфичность созданных тест-систем пока не удалось, однако, трикарбаллиловая кислота, фрагмент которой входит в молекулы фумонизинов как заместитель при C₁₄ и C₁₅, даже в концентрации 100,0 мкг/мл не была способна изменять связывание антител с твердой фазой.

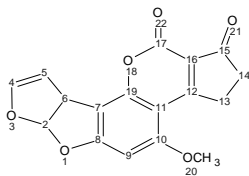
PR-токсин, содержащий в молекуле свободную альдегидную группу, был успешно конъюгирован с рядом белковых носителей методом восстановительного алкилирования и на основе полученных антител создана диагностическая тест-система, обеспечивающая специфичный анализ с высокой чувствительностью.

Получение иммунореагентов к циклопиазоновой кислоте и цитринину проведено путем конъюгирования интактных молекул с белками в условиях формальдегидной конденсации.

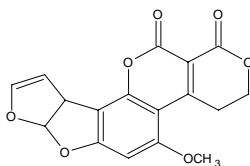
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АФЛАТОКСИНА В ИФА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Буркин М. А., Яковлева И. В., Свиридов В. В.
НИИ вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова РАМН
Москва

Афлатоксины представляют одну из групп микотоксинов и являются метаболитами 2 видов плесневых грибов *Aspergillus parasiticus* и *A. flavus*. Эти соединения особо опасны для здоровья человека и животных в связи с высокой гепато- и нефротоксичностью, канцерогенным и генотоксическим действием. Афлатоксин В₁ (АВ₁) и АМ₁ имеют близкие значения острой токсичности *in vivo*, АГ₁ уступает им в 2-3 раза, для АВ₂ и АГ₂ этот показатель значительно ниже, чем для АВ₁.



АВ₁ АГ₁



АМ₁ (6-гидрокси АВ₁)
АВ₂ (4,5-дигидро-АВ₁)
АГ₂ (4,5-дигидро-АГ₁)

Благоприятным субстратом для образования афлатоксина являются зерновые, семена масличных, орехи, а также кофе, какао бобы, продукты переработки фруктов. При потреблении контаминированных кормов афлатоксины могут накапливаться в продуктах животного происхождения.

Поступая с пищей, афлатоксин всасывается в кишечнике и попадает в печень, где подвергаются биотрансформации. Сопоставимый по токсичности с афлатоксином В₁ метаболит АМ₁ выделяется с молоком. Другие метаболиты АВ₁ — АВ_{2а} (4-гидрокси АВ₂) и 4,5-эпоксид АВ₁ необратимо связываясь с белками и ДНК ингибируют активность многих ферментов (острый токсический эффект) и блокируют синтез полипептидов, ДНК и РНК (мутагенный, канцерогенный эффект). Нормирование содержания афлатоксинов в пищевых продуктах и кормах в странах Европейского Сообщества и США представлено 4 вариантами: 1) АВ₁, 2) АВ₁ + АВ₂ + АG₁ + АG₂, 3) АВ₁ и АВ₂ + АG₁ + АG₂ 4) АВ₁ + АG₁. Установленные ПДК для афлатоксинов в объектах исследования составляют в США 20 мкг/кг, в России — 5 мкг/кг.

Во всех случаях при экспертизе необходимо выполнять анализ отдельных афлатоксинов в присутствии близких структурных аналогов, что порой трудноразрешимо из-за их близкой химической природы. Рекомендованные экспертами методы контроля основаны на двух альтернативных приемах: адсорбционной жидкостной хроматографии и гетерогенном иммуноферментном анализе (ИФА). Чувствительность, быстрота и простота определяют предпочтительность второго подхода при серийных аналитических исследованиях, а использование моноклональных антител позволяет также достичь избирательной специфичности метода.

Целью нашей работы было получение моноклональных антител (МкАт) к АВ₁, определение их специфичности по отношению к его аналогам, а также оценка чувствительности и пригодности метода определения АВ₁ в прямом конкурентном ИФА.

Для этого были синтезированы конъюгаты карбоксиметиллоксим-АВ₁ с БСА и желатином. Первый использовали как иммуноген, а второй в качестве твердофазного антигена в ИФА. Отбор клонов осуществляли, тестируя МкАт в непрямом ИФА на АВ₁-желатине. При определении параметров конкурентного ИФА в лунки, сенсibilизированные АВ₁-желатином, вносили по 100 мкл раствора антител вместе со 100 мкл раствора стандарта АВ₁ в диапазоне концентраций 0,01–100 нг/мл. Связывание МкАт в лунках с нулевой концентрацией афлатоксина принимали за 100% (контроль). По отношению к этому значению оценивали в процентах связывание антител при каждой из использованных концентраций АВ₁ и строили калибровочный график. Чувствительностью или пределом определения анализа считали концентрацию АВ₁, которая вызывала 20%-ное подавление связывания МкАт, как достоверно отличное от контроля.

Для оценки степени перекрестного взаимодействия полученных МкАт с АВ₂, АG₁, АG₂ и АМ₁ для каждого аналога определяли концентрацию, вызывающую 50% подавление связывание антител с твердой фазой (ИК₅₀). Степень перекрестного взаимодействия рассчитывали как отношение ИК₅₀ для АВ₁ к соответствующим концентрациям всех испытанных веществ и

выражали в процентах. В таблице приведены данные об отобранных 4 типах МкАт, которые позволяли определять АВ₁ с наибольшей чувствительностью 0,1-0,2 нг/мл.

Афла-токсин	МкАт-1		МкАт-2		МкАт-3		МкАт-4		ПкАт**	
	ИК ₅₀ *	%	ИК ₅₀	%	ИК ₅₀	%	ИК ₅₀	%	ИК ₅₀	%
АВ ₁	0,33	100	0,37	100	0,5	100	0,33	100	10	100
АВ ₂	1,8	18,3	7,4	5,0	3,7	13,5	0,37	89,2	64,5	15,5
АГ ₁	2	16,5	0,41	90,2	0,67	74,6	0,5	66,0	64,5	15,5
АГ ₂	12,2	2,7	14,9	2,5	18,0	2,8	7,4	4,5	602,5	1,7
АМ ₁	7,4	4,5	10,0	3,7	13,5	3,7	13,5	2,4	33300	0,03

* ИК₅₀ — концентрация вещества (нг/мл), вызывающая 50% подавление связывания антител с твердой фазой,

** ПкАт — кроличья анти-БСА-АВ₁ сыворотка

Приведенные данные свидетельствуют о том, что все МкАт наилучшим образом узнавали АВ₁. Его аналоги узнавались разными антителами по-разному. МкАт-1, как и ПкАт распознавали АВ₂ и АГ₁ в 5-6 раз хуже. По-видимому, для взаимодействия этих антител с молекулой афлатоксина существенно наличие как двойной связи при С_{4,5}, так и циклопентанового кольца, отличающего афлатоксины группы В от группы G. Для МкАт-2, -3 и -4 перекрестное взаимодействие с АГ₁ оказалось значительным и составило соответственно 90,2%, 74,6% и 66,0%, что свидетельствует, по-видимому, о гораздо меньшей их способности различать циклический фрагмент в молекуле афлатоксинов, расположенный рядом с местом привязки гаптена (С₁₅) к белку-носителю. Отмечена достаточно высокая перекрестная активность МкАт-4 с АВ₁, АВ₂, и АГ₁. Это позволяет предложить указанные МкАт в качестве реагента для группового определения афлатоксинов В и G ряда. Незначительным перекрестным взаимодействием МкАт с АГ₂ (2,5%-4,5%) можно пренебречь в связи с обычно низким его содержанием в объектах и невысокой токсичностью.

Все полученные МкАт слабо взаимодействовали с АМ₁. Принято считать, что антитела к конъюгатам гаптен-носитель лучше распознают наиболее дистальную от места присоединения к носителю часть гаптена. Согласно этим представлениям вполне понятно плохое узнавание АМ₁ с замещением по С₆, поскольку антитела были получены на гаптен, конъюгированный по С₁₅.

В рамках данной работы не удалось получить антител с исключительной специфичностью к АВ₁: перекрестная реакция с АГ₁ сохранялась, как и у ПкАт, на уровне 16%. Одинаковое распознавание АВ₁ и АГ₁ МкАт-2, наравне с высокой чувствительностью определения, представляет несомненный интерес в аналитическом плане и позволяет использовать эти антитела для суммарной оценки таких афлатоксинов для экспертизы объектов той категории, где нормированы два показателя.

Установленные параметры ИФА с использованием полученных моноклональных антител позволяют использовать его для выявления афлатоксинов непосредственно в реальных объектах (например, в тканях желудка, печени, мышцах животных, которым скармливали зерно, зараженное культурой аспергилла). Чувствительность анализа (0,1 нг/мл) позволяла определять афлатоксин в пределах нормированных значений ПДК без специальной пробоподготовки и концентрирования.

МИКО — КАРБ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ЗЕРНА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ОТ ПЛЕСЕНИ И МИКОТОКСИНОВ

*Гаврилов А. А., Стародубцева Г. П.,
Марюхина А. Г., Топчий М. В.*

*Ставропольский государственный аграрный университет,
Учебно-научно-исследовательская лаборатория
Ставрополь*

Для предотвращения роста плесневых грибов, наиболее широко используется довольно эффективный способ консервирования зерна и зернового сырья ингибиторами плесени, основанными на пропионовой кислоте. К числу таких препаратов относится Мико-Карб, производимый бельгийской фирмой Кемин, он содержит ее соли, муравьиную кислоту, бутилгидроксанизол, моно — и диглицериды жирных кислот и др.

Перед закладкой зерна и кормового сырья оно должно быть высушено до стандартной влажности 12-13%. Повышенная влажность приводит к большему расходу препарата. Так для обработки зерна в зависимости от влажности требуется жидкого препарата Мико-Карб:

12-13 % — 1-2 л/т; 14-16 % — 2-3 л/т; 16-18 % — 3-5 л/т; 18-20 % — 4-6 л/т; 20-22 % — 5-7 л/т; 22-25 % — 6-9 л/т.

В сухой форме Мико-Карб вносят в меньшей дозе, например, при стандартной влажности(14%) 0. 5-1 кг/т (рекомендации производителя препарата, компании «Кемин», 2001г.).

На базе Учебно-научной испытательной лаборатории Ставропольского государственного аграрного университета нами были проведены исследования, целью которых являлись испытания препарата Мико-Карб на способность ингибировать развитие фузариев, альтернарии, аспергиллов, пенициллов, ризопуса и бактерий на зерне озимой пшеницы.

Предварительный микологический анализ зерна 3 класса урожая 2001г., полученного с элеваторов крайне засушливой зоны и засушливой зоны показал, что зерно озимой пшеницы в среднем заражено альтернарией на 36,7%, пенициллами на10,7%, фузариями 1%, аспергиллами от 1 до 13%, ризопусом 23,7%, бактериями 11%.

Обработка этих партий зерна препаратом Мико-Карб с нормой расхода 1л/т полностью ингибировала развитие грибов рода *Alternaria* и рода *Fusarium*.

В сравнении с зерном без обработки (контроль) пораженность грибами рода *Penicillium* уменьшилась в 3–5 раз, *Aspergillus* и *Rhizopus* в 3 раза. Отмечено значительное снижение развития колоний бактерий в среднем в 5 раз при обработке Мико-Карбом. И как следствие, получение здорового зерна без заселения микофлорой.

Следующим этапом наших исследований было проведение микологического анализа зерна озимой пшеницы урожая 2002г.. Следует отметить, что частота встречаемости грибов рода *Alternaria* на зерне исследуемых элеваторов превалировала в сравнении с другими токсинообразующими грибами и находилась в пределах 42–71%.

Частота встречаемости грибов рода *Penicillium* в среднем составила 7,7%, *Fusarium* 2%, *Aspergillus* 15%, *Rhizopus* 16,3%, бактерий 3,5%.

В партиях зерна, обработанном препаратом Мико-Карб произошло значительное снижение степени пораженности грибами рода *Alternaria* от 5% до 19%.

На зерне урожая 2002г. препарат МикоКарб частично подавлял развитие грибов рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*. Полностью ингибировал развитие грибов рода *Fusarium*.

Нами проводился микологический анализ зерна озимой пшеницы предоставленного не только элеваторами, но и хозяйствами края. В партиях зерна 3 и 4 класса озимой пшеницы урожая 2002г, полученного с птицепредприятия Богословское Кочубеевского района, выявлена значительная пораженность токсинообразующими грибами, и в первую очередь грибами рода *Fusarium* 40%, *Penicillium* — 34%, *Aspergillus* 10,5%. Анализ полученных результатов показывает самую высокую биологическую эффективность препарата МикоКарб в ингибировании грибов рода *Alternaria* (100%) и грибов рода *Fusarium* (95,2%). По отношению к грибам рода *Penicillium* биологическая эффективность препарата МикоКарб в среднем составила 67,6%, *Aspergillus* 38,1%, бактерий 71,4% и 100%. При микроскопировании зерна обработанного Мико-Карбом был обнаружен защитный барьерный слой препарата, препятствующий заселению и развитию мицелия токсинообразующих грибов.

Кроме этого, проведены испытания по влиянию Мико-Карба на показатели качества зерна. В результате чего было установлено, что данный препарат не оказывает отрицательных воздействий на содержание и качество клейковины. Таким образом Мико-Карб (1л/т) показал высокую эффективность в подавлении на зерне озимой пшеницы грибной и бактериальной инфекции, полностью ингибировал развитие грибов из родов *Fusarium*, *Alternaria*, отмечена элиминация грибов рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* и бактерий.

На основании полученных данных рекомендовать препарат Микокарб (1 л/т) для подавления на зерне озимой пшеницы грибной и бактериальной инфекции, который полностью ингибирует развитие грибов из рода *Fusarium*, *Alternaria* и других токсинообразующих грибов, предотвращает плесневение зерна.

ТРАНСФОРМАЦИЯ Т-2 ТОКСИНА МИКРООРГАНИЗМАМИ КИШЕЧНИКА IN VITRO

Гончаренко А. А.

*Институт птицеводства Украинской академии аграрных наук
п. Борки Харьковской области, Украина*

Микотоксины — низкомолекулярные ядовитые вторичные метаболиты микроскопических грибов, оказывающие специфическое патологическое влияние на животный организм. Идентифицировано несколько сотен микотоксинов, некоторые являются причиной кормовых токсикозов животных. Загрязнение с/х продуктов микотоксинами имеет место во всем мире. До 80% зерна загрязнено микотоксинами в России и до 25% в Европе. Проблемы, связанные с микотоксинами, загрязняющими корма, особенно остры для птицеводства, так как основу рациона птицы составляет зерно, являющееся основным источником микотоксинов. Наличие микотоксинов в зерне и продуктах растительного происхождения составляет собой проблему и для здоровья людей. В Украине существенным фактором контаминации зерна и комбикормов являются трихотененовые микотоксины, в частности, Т-2 токсин — метаболит грибов рода *Fusarium*; как следствие, нередко, особенно в последнее десятилетие, регистрируют Т-2 токсикозы птицы. Арсенал лечебно-профилактических средств, используемых при микотоксикозах млекопитающих и птиц, невелик. Исходя из этого поиск эффективных средств и способов их применения при микотоксикозах животных, в частности при Т-2 токсикозе, остается весьма актуальным.

В последнее время в животноводстве все чаще применяют пробиотики — живые микробные кормовые добавки, которые оказывает полезное действие на макроорганизм путем улучшения его кишечного микробного баланса. Пробиотики нашли применение для лечения и профилактики желудочно-кишечных болезней инфекционной природы у молодняка с/х животных (диареи, дисбактериозов, молочнокислых ацидозов и др.); для стимуляции иммунных реакций, возникающих вследствие изменения состава рациона, нарушений режимов кормления, технологических стрессов и других причин.

По нашему мнению, перспективно создание особых пробиотиков, способных метаболизировать микотоксины в пищеварительном тракте птицы, превращая их в безвредные метаболиты. В состав таких пробиотиков должны входить микроорганизмы, способные трансформировать микотоксины. Анализ информации, касающейся трансформации микотоксинов, свидетельствует о том, что такая способность отмечается у бактерий воды и почвы, многих видов грамотрицательных микроорганизмов, а также у почвенных микромицетов. О способности сапрофитной микрофлоры кишечника птицы трансформировать микотоксины не сообщалось. Поэтому цель нашей работы — выделить из кишечника клинически здоровых кур микроорганизмы, которые способны трансформировать Т-2 токсин до менее токсичных метаболитов.

Изоляты микроорганизмов (общее число 98) выделили на МПА и среде Плоскирева из разных отделов кишечника (12-перстной, тощей, подвздошной, слепых и прямой кишок) клинически здоровых кур породы Род-айланд. Т-2 токсин получали путем адсорбционной колоночной хроматографии из экстракта культуры штамма *Fusarium sporotrichioides* 2m-15-206 на зерне. НТ-2 токсин, Т-2 триол, Т-2 тетраол получали путем обработки Т-2 токсина аммиаком с последующей изоляцией образовавшихся продуктов с помощью разделительной колоночной хроматографии. Определение Т-2 трансформирующей способности выделенных штаммов микроорганизмов проводили *in vitro* в жидкой среде с Т-2 токсином в количестве 60 мкг/мл и минимальным содержанием питательных веществ. После инкубации при 38°С на протяжении 72 часов микотоксины экстрагировали из среды хлороформом, после чего в среде определяли количество Т-2 токсина с помощью биоавтографического метода и наличие НТ-2 токсина, Т-2 триола и Т-2 тетраола методом тонкослойной хроматографии.

Все исследованные изоляты отличались между собой по культуральным свойствам: размерами и пигментацией колоний на питательных средах, скоростью роста. Анализы с использованием биоавтографического метода показали, что в контрольной среде концентрация Т-2 токсина в процессе инкубации не изменилась и составляла 60 мкг/мл. В культуральных жидкостях большинства исследованных изолятов отмечено существенное уменьшение концентрации Т-2 токсина: у 5 изолятов — на 17%; у 16 — на 27%; у 7 — на 37%; у 7 — на 44%; у 1 — на 49%; у 11 — на 50%; у 6 — на 60%; у 6 — на 67%; у 3 — на 74%; у 5 — на 80%; у 2 — на 84% и у 12 изолятов Т-2 токсин не выявили. В культуральных жидкостях 12 наиболее активных изолятов методом тонкослойной хроматографии выявили НТ-2 токсин; Т-2 триол и Т-2 тетраол не обнаружили.

Работа с целью идентификации исследованных в этой работе микроорганизмов и выявления других возможных метаболитов Т-2 токсина (деэпоксиформ) продолжается.

Впервые установлена способность микроорганизма кишечника клинически здоровых кур трансформировать *in vitro* Т-2 токсин с образованием НТ-2 токсина, который менее токсичен для животного организма.

FUNGI AND HUMAN

Gouli V.
University of Vermont
Берлингтон, США

At the present time microbial control of the different noxious for people organisms attracts significant attention of researchers and this scientific and applied direction of the human activities supports of the general public. Permanently the

world market offers the new microbial pesticides containing in the capacity of active ingredients the different forms of living microbial components including spores, toxins etc. Special attention is given consideration to the fungi induced mortal mycoses between pest populations and antagonistic fungi suppressing plant diseases. The attention to fungi as potential microbial pesticides can be explain by several reasons. First of all this group of infectious agents are characterized the contact action related to hosts and it allows to apply the fungi for control the pests with piercing-sucking type of mouth parts. Beside that, fungi do not have high level of specificity and, finally, the most part of fungi can cultivate on the simple artificial media. At present time, the different countries produce and apply different types of pesticides and assortment these formulations to grows from year to year. In connection with this circumstance becomes complicated the medical problem related to elaboration and application microbial pesticides based on different groups of fungi. All fungi useful considered as potential basis for creation fungal pesticides receive the very serious medical and toxicological estimation including specific chronic human health hazards (cancer, reproductive disorders, neurological diseases, immunological problem, specific problem with other organ system) and toxicological evidence for chronic health effects (human evidence, animal testing, ecological testing). The medical estimation of any microorganism and formulation being created on base this microorganism demands a lot of time and connects with significant financial expenditure. We propose the differential approach for safety estimation of the fungi intended for pest control. All such fungi have to be divided on the three different groups according with real and potential hazard for people. First group must include the fungi representing real danger as human pathogens. At the present time it is known several species of the fungi appearing the pathogenic agents for noxious for people invertebrates and same time these fungi are very dangerous for human health and warm-blooded animals. It is first of all species of genera *Conidiobolus*: *C. coronatus* (Costantin) Batko, *C. thromboides* Drechsler and *C. lamprauges* Drechsler (*Zygomycetes: Entomophthorales*); fungi from genera *Basidiobolus*: *B. haptospora* Drechsler and *B. ranarum* Eidam (*Zygomycetes: Entomophthorales*); fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (*Hyphomycetes*) and fungus *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl (*Hyphomycetes*). All enumerated species of the fungi are interested for microbial plant protection because the *Conidiobolus* species are the active entomopathogens. Fungus *P. lilacinus* is the quantity regulator of phytopathogenic nematodes. The local specific strains of *F. oxysporum* are used for control of *Orobantha spp.* The researches with indicated fungi are conducted in some countries from position to use these species as potential mycopesticide. This work have to be limit only ecological problems and problems related to dynamic of population. The works from position of active use the fungi known as human pathogens can not have the perspective for official registration. The toxicological and other medical estimations this group of fungi as potential microbial pesticides are not have reason.

The second group has to include the fungi relating to genera having the species with medical importance. At present time we can relate to this group the

species from following genera *Cladosporium*: *C. cladosporioides* (Fresenius) de Vries; *C. aphidis* Thuem., *C. parasiticum* Sorokin and others; *Aspergillus*: *A. flavus* Link:Fries, *A. niger* van Tieghem, *A. parasiticus* Speare, *A. ochraceus* Wilhelm; *Scopulariopsis*: *S. brevicaulis* (Sacc.) Bain.; *Sporotrix*: *S. insectorum* de Hoog & Evans; *Phyalophora*: *P. malorum* (Kidd & Beamont) McColloch; *Candida spp.*; *Phoma*: *Ph. cava* Schulzer, *Ph. glomerata* (Corda) Wollenber & Hochapfel; *Stachybotrys*: *S. alternans* Bon. (*Hyphomycetes*); *Filobasidiella*: *F. arachnophila* Malloch (*Basidiomycetes*: *Filobasidiales*).

The third group can be includes the fungi from genera which are not known as genera having the species with medical importance. At present it is the most important fungal pathogen of invertebrate noxious organisms and the most active antagonistic fungi. The modern and potential acaricidal and insecticidal formulations based on the following genera and species of fungi: *Beauveria*: *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *B. brongniartii* (Saccardo) MacLeod, *B. densa* (Link) Vuill. (*Hyphomycetes*), *Metarhizium*: *M. anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, *M. album* Petch, *M. flavoviridae* Gams & Rozsypal (*Hyphomycetes*), *Verticillium*: *V. lecanii* (Zimmerman) Viegas, *V. insectorum* (Petch) Gams (*Hyphomycetes*), *Hirsutella*: *H. thompsonii* Fisher, *H. versicolor* Petch (*Hyphomycetes*); *Achersonia*: *A. aleyrodis* Webber, *A. goldiana* Saccardo & Ellis, *A. inaspirata* Humber & Rombach, *A. turbinata* (Berkeley) Petch (*Hyphomycetes*). In this group necessary to add nematophagous fungi from genera *Arthrobotrys*: *A. oligospora* Fresenius, *A. globospora*, *A. compacta* (*Hyphomycetes*); *Dactylariopsis*: *D. brochopaga* (Drechs.) Mechtieva and others; *Golovinia*: *G. globiformis* (Drechs.) Mechtieva and others. The most useful antagonistic fungi for control first of all plant diseases are following genera and species: *Trichoderma*: *T. lignorum* (Tode) Harz, *T. harzianum*, *T. viridae*; *Ampelomyces*: *A. quisqualis*, *A. artemisiae*, *A. uncinulae* and several other genera and species are not known as the fungi having relation to human medical problems.

The fungi from third group, same as fungi from first and second group, provoke allergic reaction in people. Unfortunately there is not scientific-founded gradation of the useful for microbial control fungi in conformity with level of the allergenic activity. This problem is very important for the fungi included in the third group because the people very often work with these fungi in the closed facility and have permanent contact with fungal components.

In the past twenty — thirty years the conditions of human life acquired very remarkable changes connected with changes in industry, climate, human demographic, traffic intensification and others. These circumstances influence on the human immunological status and they provoke microbial adaptation to all the man produced changes. As a result relationship the human community with living micro world becomes more complicated. The new research indicates that the total level of organisms present is more important than what organisms are present. That is the conclusion of researches studied more than 1,700 USA buildings during several years (www. bbjenviro. com). And we can presuppose that massive application any fungus can provoke unpredictable action on people especially in closed facility (greenhouses, depository, microbial industry).

К ВОПРОСУ О ТОКСИГЕННОСТИ ГРИБА *ASPERGILLIUS FUMIGATUS* FRES, КОНТАМИНАНТА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Григорян К. М., Осипян Л. Л.

Ереванский государственный университет, биологический факультет
Ереван, Армения

Сапрофитный почвенный гриб *Aspergillus fumigatus* известен как распространенный контаминант пищевых продуктов и кормов и как возбудитель микозов и микотоксикозов человека и животных.

A. fumigatus продуцирует широкий спектр биологически активных соединений в алкалоиды, треморгенные микотоксины, антибиотики, гидролитические ферменты. Токсические соединения, выделяемые грибом способны провоцировать аспергиллофумитоксикозы, действующие на нервную систему и являющиеся причиной тяжелых алиментарных токсикозов с/х животных.

В Армении *A. fumigatus* часто обнаруживался нами на пищевых продуктах растительного и животного происхождения: в арахисе, на фруктовых плодах, в консервированном яблочном соке, сливочном и топленом масле, сыре (главным образом в сыре Рокфор в качестве контаминанта), в свежем и вяленном со специями мясе.

Обнаружена морфологическая гетерогенность штаммов *A. fumigatus* (окраска, консистенция, продуцирование склероциев), выделенных из молочных продуктов. Экспериментально показано, что присутствие в культурах *A. fumigatus* склероциев, которые не характерны для данного вида, является показателем возможной токсигенности штаммов. Среди склероциальных штаммов отмечается повышенный уровень продуцирования треморгенных микотоксинов в фумитреморгина А (0.6–0.7 мг/л) и полипептидного эндотоксина в глиотоксина (2.5 мг/л). Биотестирование экстрактов токсичных штаммов на мышах методом внутрибрюшинного введения показало их нейротоксическое действие.

Установлены высокая антагонистическая активность и термостойкость *A. fumigatus*, позволяющие его штаммам быть не только конкурентоспособными в грибных сообществах, но и ингибировать развитие других грибов. Токсикологическими исследованиями патогенных штаммов *A. fumigatus* — возбудителей аспергиллеза легких человека, показано отсутствие корреляции между патогенностью и токсигенностью. Для патогенных штаммов характерна повышенная антифунгальная активность относительно видов *Penicillium chrizogenum*, *P. roqueforti*, *A. flavus*, *A. versicolor* проявляющаяся высокой энергией роста.

Антибиотическая активность у штаммов *A. fumigatus* обнаружена по отношению к Г+ бациллам *Bacillus cereus* ATSS 11787, *B. subtilis* 6633 и кокковым бактериям *Staphylococcus aureus* ATCC 1020.

Установлен избирательный характер действия метаболитов *A. fumigatus* на семена разных видов растений и их вегетативные органы. По оказывае-

тому эффекту токсические метаболиты *A. fumigatus* могут быть ингибиторами или стимуляторами роста тест-культур, в зависимости от качественного и количественного содержания продуцируемых метаболитов.

Хроматографический анализ ацетонитрильных и водорастворимых фракций патогенных штаммов методами ВЭЖХ и ТСХ- флуориметрии выявил следовые количества клавиновых алкалоидов — фумигоклавинов и фестиклавинов. При исследовании гемолитической активности культуральной жидкости и взвеси конидий *A. fumigatus*, методом *in vitro* обнаружено, что высокотоксичные и патогенные штаммы обладают резкой гемолитической активностью. Гриб *A. fumigatus*, обладающий высокой и разнообразной ферментативностью активностью, токсигенностью, патогенностью, имеет широкие адаптационные возможности к разным субстратам и может рассматриваться как потенциальный источник загрязнения продуктов питания и представлять опасность для здоровья человека

ГРИБЫ РОДА *ASPERGILLUS*: РАСПРОСТРАНЕНИЕ, СИНТЕЗ МИКОТОКСИНОВ

*Хмельницкая И. И., Винокурова Н. Г.,
Баскунов Б. П., Аринбасаров М. У.*

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
имени Г. К. Скрабина РАН
Пушино, Московская область*

Грибы рода *Aspergillus* Mich обладают высокой метаболической активностью и адаптационной способностью. Эти грибы распространены широко и повсеместно на различных субстратах, но их исходным местообитанием является почва, преимущественно регионов с теплым климатом.

Некоторые представители рода являются условно патогенными микроорганизмами и продуцентами ряда токсичных веществ. К наиболее распространенным микотоксинам этих грибов относятся, прежде всего, афлатоксины (*A. flavus*, *A. parasiticus*), охратоксины (*A. ochraceus*) и стеригматоцистин (*A. versicolor*, *A. nidulans*). Изученность перечисленных токсинов и их продуцентов, являющихся природными контаминантами пищевых продуктов и кормов, связана с вопросами охраны окружающей среды, здоровья человека и животных. Реже грибы рода *Aspergillus* упоминаются в связи с алкалоидами, хотя многие из них также обладают токсическим действием на организм человека и животных и способны накапливаться в субстрате. В связи с этим, важное значение имеет исследование этих метаболитов и установление синтетической способности разных видов и изолятов грибов рода *Aspergillus*.

В процессе изучения распространения аспергиллов в почвах была создана коллекция из 102 изолятов, принадлежащих следующим видам рода *Aspergillus*: *A. niger* (2 изолята), *A. phoenicis* (30 изолятов), *A. fumigatus* (13

изолятов), *A. flavus* (19 изолятов), *A. versicolor* (9 изолятов), *A. ustus* (19 изолятов), *A. clavatus* (1 изолят), *A. ochraceus* (9 изолятов), и выделенных из почв различных регионов России и Украины (Самарская, Тверская, Московская и Томская области, Беломорская биологическая станция, некоторые районы горного Крыма: Алупка, Форос, Симеиз, Кара-Дагский заповедник).

При анализе вторичных метаболитов исследуемых культур основное внимание было уделено трем группам индолсодержащих алкалоидов: клавиновым алкалоидам, *альфа*-циклопиазоновой кислоте (ЦПК) и дикетопиперазиновым алкалоидам.

Среди всех изученных культур клавиновые алкалоиды были обнаружены у 6 из 13 изолятов *A. fumigatus*, что составляет 46 %. Эта группа была представлена только одним метаболитом, идентифицированным нами как фумигаклавин Б. Остальные виды аспергиллов клавиновые алкалоиды не синтезировали.

ЦПК привлекает к себе большое внимание в связи со своей токсичностью и, как показывают исследования последних лет, в связи с широким распространением среди грибов родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Этот микотоксин обнаружен нами у 26,5% исследованных изолятов, в том числе: у 4 изолятов *A. fumigatus*; 12 изолятов *A. flavus*; 1 изолята *A. versicolor*; 9 изолятов *A. phoenicis*; 1 изолята *A. clavatus*. Показано, что данный метаболит одинаково представлен у почвенных изолятов как северных, так и южных регионов России. Следует отметить, что у представителей видов *A. fumigatus*, *A. clavatus*, *A. phoenicis* ЦПК обнаружена нами впервые.

Индолсодержащие дикетопиперазиновые алкалоиды широко распространены среди грибов рода *Aspergillus*. Метаболиты этого класса обнаружены нами среди изолятов, принадлежащих к четырем видам — *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. clavatus*, *A. ochraceus*.

Для представителей вида *A. flavus*, наряду с ЦПК, характерны 2 метаболита: N-метилфенилаланилтриптофанилдикетопиперазин и его димер дитриптофеналин. Дитриптофеналин был обнаружен нами у 14 из 19 изученных изолятов, а N-метилфенилаланилтриптофанилдикетопиперазин обнаружен лишь у 5 изолятов.

Изученные нами представители наиболее токсичного вида *A. fumigatus*, помимо ЦПК и фумигаклавина Б, продуцировали еще пять индолсодержащих дикетопиперазиновых алкалоидов, идентифицированных нами как бревинамид F (пролилтриптофанилдикетопиперазин), фумитреморгин С и веррукулоген, являющихся типичными метаболитами *A. fumigatus* и связанных одной биосинтетической цепочкой. Два минорных метаболита представляли собой производные бревинамида F, содержащие диметилаллильный радикал.

Большинство изолятов *A. flavus* и все изоляты *A. fumigatus* продуцировали те или иные индолсодержащие алкалоиды, многие из которых относятся к опасным микотоксинам: ЦПК — нефротоксин и мутаген, веррукулоген и фумитреморгин С — группа треморгеновых токсинов. Эти виды аспергиллов являются наиболее опасными контаминантами пищевых продуктов и кормов.

Бревианамид F обнаружен нами у 4 из 9 представителей вида *A. ochraceus* и у единственного изолята, принадлежащего виду *A. clavatus*, причем для изолятов, принадлежащих этим видам бревианамид F показан впервые.

Показано, что представители рода *Aspergillus*, за исключением *A. ustus* и *A. niger*, являются активными продуцентами индолсодержащих микотоксинов алкалоидной природы: ЦПК, клавиновых и дикетопиперазиновых алкалоидов.

ЛИЗИС, ЕГО ПРИРОДА И РОЛЬ В ЭКОЛОГИИ ТОКСИГЕННЫХ ГРИБОВ — ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКОТОКСИКОЗОВ

Харченко С. Н.

*Национальный аграрный университет Украины,
Кафедра микробиологии, вирусологии и биотехнологии
Киев, Украина*

Лизис грибных гиф может быть обусловлен миколитическим действием микроорганизмов, высших растений (Сорокин, Бабьев, 1982), реакцией микромицетов на пищевую конкуренцию с другими компонентами в микробиоценозах (Lockwood, Filonow, 1998), ферментативным распадом грибных клеток (Шкляр, 1985; Daris, 1994). Наименее изучен процесс растворения мицелия грибов, вызванный вирусной, в частности, фаговой инфекцией (Бобырь, Садовский, 1978).

Исследование прижизненного спонтанного распада грибных клеток и причины, вызывающих его, важно в связи с тем, что миколлизис нередко лежит в основе быстрого вытеснения антагонистами определенных видов грибов из среды обитания.

Вирусы микроскопических грибов открыты в связи с получением анти-вирусных препаратов статолонина и хеленина, продуцируемых микромицетом рода *Penicillium*. Выявление интерферогенных свойств вирусных частиц у *P. stoloniferum*, *P. funiculosum*, *P. cyaneo-fulvum* побудило исследователей к интенсивным поискам вирусов у других видов грибов, в том числе поражающих корма.

Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры грибноци лизогенного штамма остротоксического вида гриба *Dendrodochium toxicum* 1903 (syn. *Myrothecium verrucaria*) показало наличие в цитоплазме, ядре, митохондриях грибных клеток вирусоподобных частиц (ВПЧ) диаметром 25–30 нм, которые были обнаружены только в живых, размножающихся гифах гриба. Развитие процесса лизиса мицелия протекало с различной скоростью в зависимости от состава среды, pH, температуры и сроков культивирования микромицета. Проявление симптомов поражения грибноци *Dendrodochium toxicum* 1903 ВПЧ зависело от штаммовой чувствительности гриба к лизирующему фактору.

Пораженные вирусами колонии грибов (*Dendrodochium toxicum*, *Stachybotrys alternans*) отставали в росте, теряли воздушный мицелий, приобретали слизистую структуру. Вирусная инфекция приводила к утрате размножения и полному лизису грибниц. Изменения, вызванные ВПЧ в морфологии грибницы, обуславливали глубокие изменения его биохимических и физиологических свойств, оказывали влияние на биосинтез микотоксинов (дендродохинов, стахиботриотоксина, трихотеценов).

Вирусная природа лизирующего агента подтверждается повышенным содержанием в клеточных стенках микромицета галактозамина, а также освобождением от ВПЧ грибницы после тепловой (до 70 °С) обработки гриба и воздействия на него противовирусных препаратов (KMnO₄, риванола, микофеноловой кислоты, фумагиллина).

В результате проведенных исследований нами впервые (применительно к нашим объектам) выявлен новый экологический фактор вирусной природы, регулирующий расселение определенных видов токсинобразующих грибов в природе.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИНДИКАЦИИ РЕГЛАМЕНТИРОВАННЫХ МИКОТОКСИНОВ

*Кобзистая О. П., Зайченко А. М.
Институт микробиологии и вирусологии
имени Д. К. Заболотного НАН Украины
Киев, Украина*

Среди многочисленных факторов окружающей среды токсические вещества — микотоксины, образуемые микроскопическими грибами, в последнее время привлекают все большее внимание. Токсигенные грибы чрезвычайно широко распространены в природе, и при неблагоприятных условиях (повышенная влажность, температура) они могут поражать различные пищевые, кормовые, производственные субстраты и наносить существенный урон народному хозяйству. Не случайно, микотоксины введены в перечень веществ регламентированных в пищевых продуктах, кормах и продовольственном сырье.

Существующие химические методы как выделения, так и определения микотоксинов подчас исключительно сложны, трудоемки и не отвечают запросам массового анализа. Биологические методы, к сожалению, не всегда достаточно специфичны или же требуют большого числа лабораторных животных. Инструментальные методы, при их привлекательности, требуют высококвалифицированного обслуживания и значительных затрат времени на предварительную подготовку образцов. К тому же они очень дорогостоящие.

В этой связи представляется перспективной разработка методов микробиологической индикации микотоксинов, основанных на использовании

высококочувствительных и высокоспецифичных тест-культур. Особенно актуальной представляется разработка таких методов в условиях регламентации ряда микотоксинов в пищевых продуктах, кормах, продовольственном сырье, когда частота встречаемости этих веществ невысока, а затраты на стандартизованные химические методы анализа непомерно высоки. Именно здесь простой и доступный метод предварительной оценки безопасности пищевых и кормовых субстратов может оказаться весьма полезным в обеспечении профилактики алиментарных микотоксикозов человека и животных.

С учетом изложенного, для разработки микробиологического метода индикации регламентированных микотоксинов сформирован банк тест-организмов, отобранных на основании изучения антибиотических свойств микотоксинов в отношении широкого набора штаммов микроорганизмов из различных таксономических групп: дрожжи (21 шт.), фитопатогенные бактерии (7 шт.), бактерии рода *Bacillus* (9 шт.), зеленые водоросли (4 шт.).

В результате проведенного исследования выявлены также штаммы микроорганизмов, устойчивые к микотоксинам, другими словами, обладающие способностью метаболизировать или трансформировать эти вещества, что, в свою очередь, открывает перспективы разработки биологических методов инактивации микотоксинов в различных субстратах.

Предложен набор индикаторных культур для использования в микробиологическом методе определения микотоксинов и отработаны оптимальные условия их инкубации. В качестве индикаторных культур рекомендуются: *Candida sp.* (Т-2 токсин), *Bacillus sp.* (афлатоксин В₁), *Erwinia sp.* (зеараленон, патулин), *Chlorella sp.* (Т-2 токсин, дезоксиниваленол).

Обсуждаются некоторые другие аспекты практического использования антибиотических свойств микотоксинов.

ФУЗАРИОТОКСИНЫ В ЗЕРНЕ КОЛОСОВЫХ КУЛЬТУР: РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

Кононенко Г. П., Буркин А. А.

*Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН
Москва*

Поражение зерновых культур грибами рода *Fusarium* — фузариоз колоса — относится к числу наиболее распространенных и вредоносных заболеваний сельскохозяйственных растений. Его масштабные проявления — эпифитотии — описаны в Центральных районах европейской части России, в Карелии, Ленинградской области, в Азово-Черноморском районе, в Краснодарском, Ставропольском, Алтайском краях, Ростовской области, Северной Осетии и Уссурийском крае. Многие виды этих грибов способны образовывать токсичные продукты метаболизма — фузариотоксины, наибольшую

санитарную опасность среди которых представляют соединения трихотеценового ряда и зеараленон.

В настоящей работе приведены результаты исследования контаминации микотоксинами зерна четырех видов колосовых культур (пшеницы, ячменя, овса и ржи), отобранного на 21 территории Уральского, Западно-Сибирского, Восточно-Сибирского и Дальневосточного регионов страны в период с 1995 по 2002 гг.

Экстракты зерна анализировали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с чувствительностью 4 мкг/кг для Т-2 токсина, 40 мкг/кг для 8-оксотрихотеценов (4-дезоксиниваленон, 3-ацетил-4-дезоксиниваленон и 15-ацетил-4-дезоксиниваленон суммарно) и 20 мкг/кг для зеараленона. Общее число исследованных проб составило 1545. По завершении анализа для каждого токсина рассчитывали частоту обнаружения в зерне по отношению числа положительных проб к общему числу исследованных (суммарно по территориям, регионам и отдельно по видам зерна) и степень контаминации по соотношению числа проб с низким, средним и высоким содержанием среди положительных.

Обобщение всех данных, полученных в ходе обследования 4-х указанных регионов, показало, что 537 проб, на долю которых приходится 34,8% от числа исследованных, контаминированы фузариотоксинами. Случаи обнаружения Т-2 токсина в зерне были выявлены во всех регионах, но частота обнаружения и степень контаминации оказались весьма различными.

В Уральском и Западно-Сибирском регионах частота обнаружения Т-2 токсина в зерне в среднем была практически одинаковой — 36,3% и 37,7%, но существенно различалась по отдельным территориям. Наиболее широкое распространение установлено в Удмуртской Республике и Челябинской области — 68,9% и 69,4%, соответственно, средний уровень — в Свердловской и Курганской областях — 46,2% и 49,0% и значения, граничащие с нижним порогом диапазона по Уральскому региону, в Пермской области и Республике Башкортостан — 25,0% и 27,0%. Крайне низкая загрязненность зерна токсином в Оренбургской области (5,1%) могла быть связана со слабой пораженностью его фузариями.

В Западно-Сибирском регионе самая высокая загрязненность зерна Т-2 токсином наблюдалась в Алтайском крае — 86,9% проб. На остальных территориях его распространение было одинаковым 24,4 — 33,3% в Омской, Тюменской и Кемеровской областях. Значительные различия в данных, полученных по Томской (5,9%) и Новосибирской (47,8%) областям, как оказалось, связаны с особенностями токсинообразования у доминирующих возбудителей фузариоза.

В Восточно-Сибирском регионе контаминация зерна Т-2 токсином оказалась значительно меньшей и составила в среднем 9,6%. В Иркутской и Читинской областях загрязненность была практически одинаковой — 15,2% и 14,3%, в Красноярском крае — ниже, всего 9,3%. Ни в одной из 48 проб зерна, полученных в 2000 г. с территории Республики Бурятия, этот токсин обнаружен не был.

В зерне из Дальневосточного региона частота выявления Т-2 токсина оказалась равной 29,6%, что было несколько ниже, чем в Уральском и Западно-Сибирском регионах, но при этом различия по трем отдельным территориям (Амурская область, Хабаровский и Приморский края) были несущественными — 20,3 — 26,0%, а в Еврейской автономной области Т-2 токсин имел значительную распространенность и был обнаружен в 55,6% проб.

Систематизация всех полученных данных по разным видам зерна показала, что овес подвержен контаминации Т-2 токсином в гораздо большей степени, чем ячмень, пшеница и рожь. Случаи обнаружения высоких уровней содержания в зерне овса были также самыми частыми.

Наиболее характерным для всех обследованных регионов было загрязнение зерна Т-2 токсином в количествах от 10 до 100 мкг/кг. В Уральском, Западно-Сибирском и Восточно-Сибирском фоновая контаминация (< 10 мкг/кг) встречалась также достаточно часто — 24 — 36% проб от числа положительных, а высокие уровни содержания были редкими — 2-3%. По Дальневосточному региону, наоборот, сверхнормативная контаминация была установлена в 16 пробах из 88, т. е. в 18,2% случаев, а незначительная — менее, чем в 4% проб.

В масштабах всего исследования случаи контаминации зерна Т-2 токсином в количествах, превышающих 100 мкг/кг, были выявлены в 24 пробах из 444 положительных, т. е. в 5,4%, только на 9 из 20 территорий, для которых установлено присутствие Т-2 токсина в зерне, и преимущественно в Дальневосточном регионе. Диапазон сверхнормативного содержания токсина составил от 110,0 до 625,5 мкг/кг.

Продолжение исследований в этом регионе показало, что фузариозное зерно, главным образом, пшеница, кроме Т-2 токсина, содержит и другие контаминанты фузариогенной природы — группу 8-оксотрихотеценов (4-дезоксиниваленол и его аналоги) и зеараленон. Если в Амурской области случаи обнаружения этих токсинов были крайне редкими — 1,7%, в Хабаровском крае и Еврейской автономной области составляли уже 25,0 % и 21,1%, то в Приморском крае становились массовыми. Так, в 2001 г. количество проб зерна, положительных по загрязненности 8-оксотрихотеценами и зеараленоном, составило 52,9%, а в 2002 г. — 90,7%. Если учесть, что общие показатели распространенности фузариотоксинов для региона в эти годы были равны 70,2 и 92,6%, соответственно, то становится совершенно ясным, что вклад этого типа контаминации является доминирующим. Более того, 24 пробы зерна из 102 положительных, т. е. 23,5%, содержали 8-оксотрихотецены в количествах, которые превышали предельно-допустимый уровень 1000 мкг/кг.

К числу других особенностей состояния фузариозного зерна в Приморском крае относится также значительная доля случаев совместного присутствия в нем фузариотоксинов. Так, в 2001 г. смешанный тип контаминации имели 45% проб от числа положительных, в 2002 г. — 82%. Все это свидетельствует о том, что микотоксикологическая ситуация в регионе является достаточно острой и требует пристального внимания всех специалистов, призванных осуществлять контроль безопасности агропродукции.

По нашему мнению, системный и масштабный подход к изучению состояния контаминации зерна фузариотоксинами, осуществленный в рамках данной работы, является первым и необходимым шагом на пути формирования полного представления о последствиях фузариозного поражения колосовых культур на территории России.

ТОКСИЧНЫЕ ГРИБЫ ПОРЯДКА AGARICALES В КАБАРДИНО-БАЛКАРИИ

Кривина Е. А., Шхагапсов С. Х.
БГУ им. Х. М. Бербекова
Нальчик

Плодовые тела грибов порядка Agaricales синтезируют ряд физиологически активных веществ, имеющих разнообразный спектр действия. Это гемолизины, аглутинины, гиалуронидазы и некротические субстанции, которые вызывают патологические изменения в организме человека. Собранные по незнанию и употребленные в пищу, они могут вызвать отравление, иногда с летальным исходом. Их количество в республике по предварительным данным только по одному порядку Agaricales составляет 14 видов из 6 родов. Ниже приводим их разнообразие:

1. *Amanita phalloides* (Vaill.: Fr) Link — широколиственный и смешанный лес, на почве, июль-сентябрь, Белореченское охотничье хозяйство.
2. *A. Verna* (Bull.: Fr) Pers. — на песчаной почве — грабово-буковый лес (август — сентябрь), Кизилровка, Урванские дубки.
3. *A. cintrina* (Shaeff) Pers. — широколиственный лес, август — октябрь, окрестности с. Аушигер, Герпегеж.
4. *A. muscaria* (L.: Fr) Pers. — широколиственный лес, июль — сентябрь, Урванские, дубки.
5. *A. porphyria* (Alb. et Schw.: Fr.) Mlady — смешанный лес и широколиственный, июль — сентябрь, Белореченское охотничье хозяйство, ущелье Адыл -Су.
6. *Paxillus involutus* (Batsh.: Fr.) Fr. — широколиственный лес, июнь — октябрь, окрестности с. Бабугент, Голубые озера.
7. *Huholoma fasciculare* (Fr.) Kumm — грабово-буковый лес, июнь — октябрь, Кизилровка, окр. Кенже.
8. *H. suloteritium* (Fr.) Quel — грабово-буковый лес, июнь — октябрь, Кизилровка, окр. с. Кенже, Шалушка, часто.
9. *H. capnoides* (Fr.: Fr) Kumm — широколиственный лес, июнь — октябрь, Белореченское охотничье хозяйство, часто.
10. *Mucena incilinata* (Fr.) Quel — на вырезанной древесине, покрытой мхом, широколиственный лес, часто, июнь, окр. Г. Нальчик
11. *M. alcalina* (Fr.) Kumm — в смешанном лесу, группами, Белореченское охотничье хозяйство, часто.

12. *M. rosella* (Fr.) Kumm — в смешанном лесу, июль — октябрь, повсюду в предгорном поясе.

13. *Pholiota alnicola* (Fr.) Sing — на валеже, широколиственный лес, июнь — октябрь, окр. с. Урвань, Кенже.

14. *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quel. — широколиственный лес, июль-август, ущелье Адыл-Су, часто.

АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА ПОВЕРХНОСТИ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Кузнецова Л. С.

*Московский государственный университет прикладной биотехнологии
Москва*

Здоровье человека в значительной степени определяется качеством потребляемых им продуктов. Только те продукты питания, которые содержат необходимое и сбалансированное количество пищевых компонентов, способствуют нормальной жизнедеятельности людей, профилактике различных заболеваний, препятствуют негативному воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, в том числе и стрессов различного характера.

Понятие качества пищевых продуктов включает в себя не только их пищевую ценность, органолептические свойства, но и микробиологическую безопасность. Производство и обеспечение безопасного хранения продуктов питания — один из основных факторов, определяющих здоровье населения, поскольку микроорганизмы, поражающие поверхность пищи, вызывают не только пищевые отравления, но и продуцируют высокотоксичные вещества, в частности микотоксины, обладающие мутагенными и канцерогенными свойствами.

Ведущая роль в микробиологическом поражении поверхности пищевой продукции и готовых продуктов питания принадлежит мицелиальным грибам. Именно эти микроорганизмы, обладающие липолитической и протеолитической активностью, не только вызывают биодеструкцию важнейших макромолекул пищи — белков и жиров, но и продуцируют высокотоксичные вещества, а также создают благоприятные условия для развития других бактерий, в том числе и болезнетворных, вызывающих аллергии и токсикозы у людей. Избежать последствий неблагоприятного воздействия плесневых грибов на пищевые продукты можно лишь обеспечив на всех стадиях их производства, хранения и реализации надежную антимикотическую защиту.

В представленном сообщении рассматриваются полифункциональные средства и технологии, предназначенные для комплексной антимикотической защиты поверхности пищевых продуктов, разработанные в последние годы в проблемной лаборатории полимеров МГУ прикладной биотехнологии. При выборе антимикотических соединений авторы руководствовались

следующими основными правилами: не оказывать негативного влияния на продукты и не навредить здоровью людей.

Разработаны технологии обработки поверхности мясных продуктов специальными защитными препаратами, обеспечивающими надежную антимикотическую защиту поверхности различного рода колбас и мясных деликатесов в процессе производства, хранения, транспортировки и реализации. Установлено, что обработка поверхности колбасных батонов этими составами способствует сохранению доли ненасыщенных жирных кислот в колбасном фарше, что очень важно для профилактики самых разнообразных заболеваний у людей, в частности ишемической болезни сердца, атеросклероза, псориаза, образования тромбов и т. д. Антимикотическая технология обработки белковых и натуральных колбасных оболочек позволяет увеличить срок годности колбас, сохранить их качество и органолептику.

Применение антимикотических составов для ухода за твердыми сычужными сырами в период созревания, хранения, транспортировки позволяет полностью исключить трудоемкий процесс мойки поверхности сыров и предотвратить их зачистку перед упаковкой.

Следовательно, использование средств антимикотической защиты позволяет не изменять традиционной технологии получения мясных и молочных продуктов питания и производить продукцию, отличающуюся экологической и санитарно-гигиенической доброкачественностью.

Сохранению качества пищевых продуктов способствует также сочетание разработанных способов локальной защиты их поверхности с комплексом санитарно-гигиенических мероприятий при производстве и хранении. Для этого в МГУ прикладной биотехнологии разработаны дезинфицирующие препараты пролонгированного действия и технологии их применения в пищевом производстве и предприятиях торговли.

Разработанные средства антимикотической защиты поверхности пищи внедрены в промышленность и широко используются на перерабатывающих предприятиях АПК.

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ ОТРАВЛЕНИЯМИ ГРИБАМИ В УСЛОВИЯХ МАССОВЫХ ПОСТУПЛЕНИЙ

*Лаврентьев А. А., Леженина Н. Ф., Полякова Ж. А.,
Сертаков А. В., Ермоленко С. В., Федоренко Т. Г.*

*Воронежская государственная медицинская академия имени Н. Н. Бурденко,
кафедра анестезиологии и реаниматологии
Воронежская областная клиническая больница № 1
Воронеж*

Острое отравление грибами остается сложной проблемой современной токсикологии. Летальность при данной патологии, даже в условиях интен-

сивного лечения с включением методов экстракорпоральной детоксикации (гемосорбция, гемодиализация) может достигать 50% и более (Е. А. Лужников, 1999; С. Г. Муселиус, 1991; В. Г. Алексеев, 1993; J. L. Clain и соавт., 1989; W. F. Piering, Th. Zilker, 1996). Особую сложность представляют массовые поступления больных с острым отравлением грибами в летне-осенний период (В. Н. Родионов и соавт., 2000; В. Н. Дагаев и соавт., 1993; М. И. Чубирко, 1993).

За период 1996 — 2002 годов специализированную помощь на базе Областной клинической больницы № 1 получили 1239 больных (55,5% женщин и 44,5% — мужчин). Средний возраст больных — $48,3 \pm 15,3$ лет. Латентный период длительностью $10,45 \pm 4,8$ часов.

Синдром гастроэнтерита наблюдался у 98,7% пациентов. У 67,7% больных диагностирована I степень, 18,7% — II степень, 13,6% — III степень гепатопатии. Критический период течения отравления развивался на 2 — 3 сутки от начала клинических проявлений, с максимальной летальностью в те же сроки.

Лечение проводилось на основании разработанных в клинике прогностических критериев (гемодинамические и волевические нарушения, показатели белкового обмена, трансаминазы, билирубин), на основании которых выделяли 3 группы больных: легкой, средней и тяжелой степени тяжести, имеющих соответственно благоприятный, сомнительный и неблагоприятный прогноз.

Учитывая массовость поступления пациентов нами были разработаны стандартные схемы лечения, назначаемые больным на основании анализа «прогностических показателей».

У больных легкой степени тяжести схема включала:

- Промывание желудка с назначением гастроинтестинальной энтеросорбции (полифепам по 1 ст. ложке в стакане воды 3 раза в сутки).

- Форсированный диурез после коррекции гиповолемии, электролитных расстройств.

- Инфузионная терапия, включающая плазмозамещающие растворы, 0,9% хлорид натрия, 4% бикарбонат натрия, 5% раствор глюкозы. Объем инфузии составил $3,24 \pm 0,47$ л в сутки.

- С целью деконтаминации кишечника назначались эрсефурил, левомицетин.

- Гепатопротекторы в виде эссенциале, карсила, гептрала, витаминов — В₁, В₆, В₁₂, С.

- Для купирования энтерита больные получали имодиум, лопедиум.

Методы экстракорпоральной детоксикации, такие как гемосорбция (в первые сутки отравления), плазмаферез, гемодиализ.

Плазмаферез выполнен у 78,5% больных. Гемодиализация, проводилась преимущественно тяжелым больным у 7,2% больных, что связано с поздним поступлением больных в стационар.

У больных средней степени тяжести схема интенсивной терапии усиливалась назначением:

- Свежезамороженной плазмы, альбумина, инфезола (объем инфузионно-трансфузионной терапии составил $4,51 \pm 2,12$ л в сутки).

- Кортикостероидов с целью создания гуморальной защиты.
- Дезагрегантов, таких как реополиглюкин, рефортан, трентал, пентоксифиллин.
- Антиоксидантов — берлитион или тиоктацид.

У больных с тяжелой степенью отравления объем инфузионной терапии составлял $6,27 \pm 2,12$ л в сутки, включая аминокислотные смеси с гепатопротективными свойствами (аминоплазмаль-гепа, гепасол А). Гемодиафильтрацию, либо плазмаферез проводили два раза в сутки с целью снижения интоксикации, гепато- и энцефалопатии. Ноотропные препараты (пирacetам, глиатилин, актовегин) были эффективны в максимальных терапевтических дозах. Раннее начало зондового энтерального питания (берламин, нутризон) позволяло быстрее купировать явления гастроэнтерита, улучшить энергообеспечение, уменьшить дефицит белка в организме.

Внедрение прогностической системы оценки тяжести состояния больных с назначением в кратчайшие сроки стандартных схем лечения позволило снизить показатели с 19,7% до 13,3%.

МИКОТОКСИНЫ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ И МИКОТОКСИКОЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Левитин М. М.

*Всероссийский научно-исследовательский институт
защиты растений (ВИЗР)
Санкт-Петербург — Пушкин*

В настоящее время известно более 300 микотоксинов, продуцентами которых являются грибы (Hussein, Brasel, 2001). Среди них наибольшую опасность для человека представляют микотоксины фитопатогенных грибов — возбудителей болезней растений. Основными продуцентами микотоксинов являются фитопатогенные грибы рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Claviceps* и ряд других. Известно, что виды *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *P. expansum*, вызывающие плесени на ряде сельскохозяйственных культур, являются продуцентами афлатоксинов. Многие виды *Fusarium*, поражающие зерновые культуры, являются продуцентами фузариотоксинов дезоксиниваленола (DON), ниваленола (NIV), зеараненона (ZEN), Т-2 токсина, фумонизинов и др. Гриб *Claviceps purpurea* — возбудитель спорыньи злаков, продуцирует эрготоксины.

Сельскохозяйственные культуры, пораженные токсичными грибами и содержащие микотоксины, являются первичным источником микотоксикозов. Поступая с пищевыми продуктами человеку, они вызывают проявление у него различных заболеваний. Афлатоксины являются сильнейшими гепатоканцерогенами. Фузариотоксины обладают нефротоксичными, иммуносупрессивными и канцерогенными свойствами. Эрготоксины вызывают эрготизм у человека.

Впервые заболевания неинфекционной природы, называемые микотоксикозами были описаны в 1932 г. А. Х. Саркисовым. Во время Отечественной войны на Урале, в Сибири, Поволжье, Казахстане наблюдались смертельные случаи от септической ангины, в связи с чем, начались детальные исследования этого заболевания. В результате проведенных исследований было установлено, что причиной заболевания является потребляемое в пищу зерно, зараженное грибом *F. sporotrichioides*. Перезимовавшее зерно содержало микотоксины гриба и обладало токсическими свойствами (Саркисов, 2000).

Во второй половине XX века усилилось поражение зерновых культур фузариозами. Только в нашей стране произошли две сильнейшие эпифитотии фузариоза колоса пшеницы на Северном Кавказе — в 1988 и 1992 гг. В десятки раз возросла загрязненность зерна фузариотоксинами. В 1992 г. в Краснодарском крае 27,9 зерна, 19,2 комбикормов и 21,6 прочих кормов были токсичными.

С поражением зерновых культур фузариозами и накоплением в них DON и ZEN связаны заболевания, вспыхнувшие в 90-е годы в США, Китае, Японии и Австралии (Hussein, Brasel, 2001). В 1994 г. в Индии (Кашмир) была описана эпидемия алиментарного микотоксикоза. Симптомы — боли в желудке, понос, рвота, кровь в стуле пациента, раздражение в горле, аллергические реакции на коже. Заболевание возникло от использования пшеницы и риса, содержащих высокие дозы фузариотоксинов. В эти же годы на Балканах возникла эпидемия нефропатии, вызванная потреблением пищи, содержащей охратоксин. Симптомы — значительное уменьшение размеров почек и внутритканевой фиброз.

22 сентября 1995 г. «Комсомольская Правда» опубликовала статью Татьяны Максимовой «Не храните злаки в «злчных» местах». В статье сообщалось, что на Алтае рождаются дети с желтым цветом кожи. Медики назвали такую патологию «желтуха неясной природы». У больных детей наблюдается затяжная желтуха, поражается нервная система, почки и другие жизненно важные органы. Риск родить ребенка с подобной патологией слишком велик, ибо в некоторых районах Алтайского края каждый третий новорожденный страдает затяжной желтухой. Существует 2 версии на причину этого явления. Одна из них — повышенный радиационный фон, возникший в результате ядерных испытаний. Другая — высокая зараженность зерна токсичными видами *Fusarium*, что приводит к накоплению в пищевых продуктах высоких концентраций микотоксинов. Первую версию (повышенный радиационный фон) отрицать не следует, но случаи рождения детей с подобной патологией отмечались также в Архангельской, Липецкой, Астраханской, Оренбургской, Кемеровской и Тульской областях. Мало вероятно, что во всех перечисленных областях был повышенный радиационный фон.

Проведенные в лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР анализы образцов алтайского зерна показали, что более 40% образцов заражено грибами *F. poae*, *F. equiseti* и *F. sporotrichioides* — продуцентами Т-2 токсина. По-видимому, можно согласиться с версией о биологическом происхождении феномена «желтые дети». Алтайский край, где существует высокая скрытая зараженность растений такими токсичными микромицетами как *F.*

sporotrichioides, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. moniliforme* и др. может быть отнесен в группу фузариоопасных микотоксикологических регионов России.

Многими экспериментальными работами доказана способность клинических изолятов фузариумов продуцировать микотоксины. В частности, в 90-х годах Нельсон с соавторами (Nelson et al., 1991) показали, что штаммы *F. moniliforme*, изолированные от пациентов больных грибным кератитом или различными формами рака продуцируют токсин фумонизин В₁. Другими авторами (Raza et al., 1993, 1994) описывается способность штаммов *F. oxysporum* и *F. solani*, выделенных соскобом с роговой оболочки глаза пациентов, продуцировать NIV, DON, T-2 токсин.

Группой американских и японских исследователей (Sugiura et al., 1999) показана способность штаммов *F. moniliforme*, выделенных из крови пациентов и штаммов *F. proliferatum*, выделенных из крови и спинномозговой жидкости продуцировать фумонизины В₁, В₂, В₃ в концентрациях от 5,3 до 563,6 мкг/г⁻¹.

Сложность проблемы защиты человека от микотоксикозов усугубляется тем, что зерно и зернопродукты, содержащие микотоксины не теряют токсичности в течение многих лет. По данным А. Х. Саркисова (2000) экстракты микотоксинов, выделенные из растительных субстратов не разрушались после хранения в течение 30–32 лет. Осуществлять детоксикацию микотоксинов в растительном сырье практически не возможно. Решение проблемы может быть найдено только при объединении усилий микологов, специалистов по защите растений, ветеринаров, пищевиков и конечно медиков.

В связи с вышесказанным, приоритетными следует считать:

1. Развитие работ в области сельскохозяйственной и медицинской микологии.
2. Постановка широкомасштабных работ по защите растений от токсичных микромицетов и селекции болезнеустойчивых сортов сельскохозяйственных культур.
3. Проведение тщательного микологического и микотоксикологического контроля за сельскохозяйственной продукцией, кормами сельскохозяйственных животных, животноводческой и пищевой продукцией.

ЯДОВИТЫЕ ГРИБЫ СЕРПУХОВСКОГО РАЙОНА МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Левицкая Г. Е.

*Институт биофизики клетки РАН
Пушино, Московская область*

В результате изучения видового состава макромицетов в 1990–1996 и 2001 г. на территории Приокско-Террасного заповедника, включая его охранную зону, окрестностей с. Турова (левобережье р. Оки), г. Пушина с окрестностями (правобережье Оки) было собрано около 1,5 тысяч гербар-

ных образцов, более 90% из них определены. Исследованная территория — около 15 кв. км вполне репрезентативна для Серпуховского района, лежащего на границе двух природных зон — тайги и широколиственных лесов, и включает самые различные биоценозы — от заповедных старовозрастных лесов до агроценозов и непосредственно территории малого города. На исследованной территории нами выявлено около 600 видов агарикоидных (шляпочных грибов); ядовитыми, по данным, имеющимся в литературе, являются 23 вида.

Список ядовитых видов приведен в систематическом порядке. Знаком (!) отмечены сильно ядовитые виды. Указана частота встречаемости: очень редко (о. р.) — 1-2 находки; редко (р.) — 3-10 местонахождений; довольно часто (д. ч.) — 11-20 местонахождений; часто (ч.) — более 20 местонахождений; очень часто (о. ч.) — повсеместно. Указан также сезон плодоношения.

Сем. *Agaricaceae* — Агариковые

Lepiota brunneoincarnata Chud. & Mart. — Лепиота коричнево-мясо-красная, о. р., август-сентябрь.

L. subincarnata Lange — Л. мясо-красноватая, р., август-сентябрь.

Сем. *Amanitaceae* — Мухоморовые

Amanita citrina (Schaeff.) Pers. — Мухомор лимонный, о. ч., август-октябрь.

A. gemmata (Fr.) Bertill. — М. почковидный, (!), р., август-сентябрь.

A. muscaria (L.) Pers. — М. красный, о. ч., июнь-октябрь.

A. pantherina (DC.: Fr.) Krombh. — М. пантерный, (!), р., август-сентябрь.

A. phalloides (Fr.) Link. — Бледная поганка, (!), ч., июль-сентябрь.

A. porphyria Alb. & Schw.: Fr. — М. порфирный, д. ч., август-октябрь.

A. virosa (Fr.) Bertill. — М. вонючий, (!), д. ч., июль-сентябрь.

Сем. *Entolomataceae* — Энтоломовые

Entoloma sericeum (Bull.) Quel. — Энтолома шелковистая, д. ч., июль-сентябрь.

E. vernum Lundell. — Э. весенняя, р., апрель-май.

Сем. *Strophariaceae* — Строфариевые

Huholoma fasciculare (Huds.: Fr.) Kumm. — Ложноопенок серно-желтый, о. ч., май-октябрь.

Stropharia hornemannii (Fr.: Fr.) Lund. & Nannf. — Строфария Хорнемана, ч., август-октябрь.

Сем. *Tricholomataceae* — Рядовковые

Clitocybe cerrusata (Fr.) Kumm. — Говорушка восковидная, д. ч., август-сентябрь.

C. rivulosa (Pers.: Fr.) Kumm. — Г. ядовитая, ч., август-сентябрь.

Mycena pura (Pers.: Fr.) — Мицена чистая, о. ч., июль-октябрь.

Tricholoma virgatum (Fr.: Fr.) Kumm. — Рядовка заостренная, д. ч., сентябрь-октябрь.

Сем. *Cortinariaceae* — Паутильниковые

Cortinarius gentilis (Fr.) Fr. — Паутильник благородный, (!), р., август-сентябрь.

Galerina cedretorum (Maire) Sing. — Галерина кедровая, (!), о. р., август-сентябрь.

G. marginata (Batsch) Kohn. — Г. отороченная, (!), о. р., июнь-июль.

Inocybe geophylla (Sow.: Fr.) Kumm. — Волоконница земляная, ч., август-сентябрь.

I. lanuginosa (Bull.: Fr.) Kumm. — В. шерстистая, р., август.

I. rimosa (Bull.: Fr.) Kumm. — В. трещиноватая, д. ч., август-октябрь.

Следует отметить, что свойства многих видов макромицетов, в том числе наличие в них ядов, не изучены. Это в первую очередь относится к грибам семейства Паутинниковых. Из найденных нами на исследованной территории 115 видов этого семейства только около 20% можно с полной уверенностью отнести к неядовитым, биохимические свойства остальных не изучены. Например, нами в Серпуховском районе найдены 29 видов рода Волоконница (*Inocybe*), химические свойства известны только для нескольких из них. По данным Э. Л. Нездойминого (1996) с изученных по химическому составу видов этого рода содержат мускарин, причем его содержание в них на 2 порядка выше, чем в красном мухоморе. Следовательно, по мере биохимического изучения макромицетов вероятно значительное увеличение нашего списка ядовитых грибов.

Учитывая частоту встречаемости, внешний вид (сходство со съедобными грибами), в Серпуховском районе наиболее вероятны отравления бледной поганкой, энтоломой шелковистой, ложноопенком серно-желтым, строфарией Хорнемана, рядовкой заостренной.

ПРОДУЦИРУЮЩИЕ ТОКСИНЫ МИКРОМИЦЕТЫ НА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Лугаускас А., Стакенене Ю.

Институт ботаники
Вильнюс, Литва

Одним из экологических факторов, снижающих качество овощей, фруктов, ягод и других пищевых продуктов растительного происхождения, являются микромицеты, развивающиеся на них в условиях выращивания, уборки, хранения и реализации. Уже в самом начале развития микромицетов на продуктах растительного происхождения изменяется их вкус, запах, внешний вид, наносится большой экономический ущерб.

Благодаря биологическим особенностям: способности усваивать различные субстраты, развиваться в крайне экстремальных условиях, производить множество легко распространяющихся конидий и спор, продуцировать в окружающую среду вторичные метаболиты, часть которых являются токсичными для растений, животных и людей, микромицеты часто становятся весьма агрессивным и опасным фактором окружающей среды. В последнее время пищевые продукты растительного происхождения импортируются

из различных стран мира. С этими продуктами завозятся многие новые в условиях Литвы ранее не встречаемые виды микромицетов. Весьма большая доля выделенных микромицетов была отнесена к родам *Aspergillus*, *Eurotium*, *Fusarium*. Из выделенных микромицетов необходимо отметить следующие виды, активно продуцирующие токсичные вторичные метаболиты: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. penicilliodes*, *A. oryzae*, *A. ustus*, *A. awamori*, *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. fischeri*, *Eurotium herbariorum*, *A. niveoglaucus*, *Fusarium equiseti*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. culmorum*, *F. solani*, *F. nivale*, *F. sporotrichioides*, *F. moniliforme*.

Из пищевых продуктов растительного происхождения, выращенных и переработанных в разных экологических условиях за период 1998–2002 г. было выделено и идентифицировано 294 вида микромицетов, относящихся к микроспоровым и другим систематическим группам. При помощи экспресс методов проверены их способности продуцировать и выделять в окружающую среду токсичные вещества. Установлено, что большинство выделенных изолятов, способных продуцировать токсины относятся к родам *Aspergillus*, *Fusarium* и *Penicillium*. Однако довольно активные продуценты таких веществ обнаружены среди изолятов из родов *Alternaria*, *Acremonium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*.

По результатам исследований на линейные мыши *BALB/c* оказали штаммы, принадлежащие к следующим видам: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. penicilliodes*, *Fusarium equiseti*, *F. sporotrichioides*, *F. moniliforme*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. nivale*.

Из комбикормов, предназначенных для подкормки рыб, удалось выделить штамм гриба *Aspergillus flavus* интенсивно продуцирующий афлатоксины. Широко были распространены микромицеты *Aspergillus fumigatus*, активно продуцирующие фумигоклавин, фумитоксин, фумитреморген, глиотоксин, органические кислоты и другие вещества.

Таким образом, пищевые продукты, пораженные микромицетами, могут быть причиной токсикозной диспепсии с различными исходами и других болезней человека.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГРИБА *FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES* SHERB. В ЗЕРНЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Малиновская Л. С., Пирязева Е. А., Кислякова О. С.
Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной санитарии, гигиены и экологии
Москва

Гриб — сапротроф *Fusarium sporotrichioides* Sherb., в таксономической системе В. И. Билай (1977) обозначаемый как *F. sporotrichiella*, чрезвычайно широко распространен в почве и на органических (растительных) остатках

в различных климатических зонах мира. Известна также его способность к паразитированию при определенных условиях на сельскохозяйственных растениях, приводящая к возникновению у них фузариозных заболеваний, в частности, фузариоза колоса и зерна. Но потеря урожайности — это лишь часть большой проблемы, вызываемой этим видом. Как известно, *F. sporotrichioides* в процессе своей жизнедеятельности способен продуцировать высокотоксичные метаболиты (микотоксины) трихотеценовой группы. Наибольшую опасность представляет Т-2 токсин, являющийся этиологическим фактором алиментарно-токсической алейкии людей и Т-2-токсикоза сельскохозяйственных животных и птиц.

Повсеместная распространенность *F. sporotrichioides*, наличие у него токсинообразующих и фитопатогенных свойств и связанная с этим возможность развития гриба и накопления микотоксинов не только в период вегетации хлебных злаков, но и в период хранения зерна, делают актуальным детальное изучение распространенности его в различных регионах России.

В данную работу вошли микологические исследования, целью которых было изучение степени пораженности зерна пшеницы, ржи, овса и ячменя *F. sporotrichioides* из различных административных единиц, входящих в состав каждого обследованного региона. Всего исследованию подвергнуто 2195 проб зерна из 8 регионов России — из Поволжья (71 проба), Центральной России (651 проба), Уральского (445 проб), Западной Сибири (468 проб), Восточной Сибири (369 проб) и Дальневосточного (191 проба). Проводили первичное выделение грибов из зерна, выделение фузариев в чистые культуры, видовую идентификацию их в соответствии с таксономической системой С. Booth, применяя рекомендованные им методы.

Степень пораженности зерна *F. sporotrichioides* в каждом регионе определяли путем подсчета процента пораженных этим грибом проб от общего числа исследованных. Наиболее высокая контаминация зерна этим грибом выявлена в Дальневосточном регионе — в 21,9% проб от числа исследованных, несколько меньшей она была в Западной Сибири (в 12,8% проб), и в Центральной России (в 9,7% проб). Еще меньшая пораженность зерна *F. sporotrichioides* отмечена в Восточной Сибири (в 5,1% проб), на Урале (в 2,9% проб) и в Поволжье (в 2,8% проб).

С целью выяснения удельного веса *F. sporotrichioides* в популяциях фузариев, заселяющих зерно в определенном регионе, проведен подсчет процента контаминации этим видом проб зерна от общего числа пораженных фузариями. Полученные результаты вполне коррелируют с данными, приведенными выше. Наибольший процент пораженности проб зерна *F. sporotrichioides* выявлен в Дальневосточном регионе (в 29,6% проб от числа пораженных *Fusarium*). В Западной Сибири и в Центральной России также установлен достаточно высокий процент обнаружения этого вида — в 25,6% проб и в 16,0% проб соответственно. В остальных изученных регионах он встречается реже — В Восточной Сибири *F. sporotrichioides* обнаружен в 9,2% проб, на Урале — в 8,2% проб и в Поволжье — в 6,0% проб от числа пораженных фузариями.

Полученные результаты позволили отнести *F. sporotrichioides* к числу доминантных видов *Fusarium* в Дальневосточном регионе, Центральной России и Западной Сибири. Исследования в этом направлении продолжаются.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ДЛЯ БИОИНДИКАЦИИ СТАХИБОТРИОТОКСИНОВ

*Менджул М. И., Андриенко Е. В., Лысенко Т. Г.,
Зайченко А. М., Бусахина И. В., Шаинская О. А.*

*Институт микробиологии и вирусологии
им. Д. К. Заболотного НАН Украины
Киев, Украина*

Среди токсинообразующих грибов особое место занимают представители рода *Stachybotrys*, которые повсеместно распространены в природе, продуцируют целый комплекс токсических веществ различной химической природы (макроциклические трихотецены, триховероллы, триховерины, стахиботрины, спиролактоны и др.) и имеют непосредственное отношение к вспышкам стахиботриотоксикоза — тяжелого заболевания людей и животных.

Многокомпонентный состав токсических веществ *Stachybotrys* обуславливает широкий спектр их биологической активности. Для создания надежной многокомпонентной системы биотестирования стахиботриотоксинов проведен поиск новых тест-организмов для их индикации. С этой целью осуществлен скрининг культур цианобактерий различных таксономических групп на их чувствительность к действию комплексных препаратов токсинов 18-ти штаммов *Stachybotrys chartarum* (Ehrenberg:Link) Hughes, отличающихся по физиолого-биохимическим характеристикам, в том числе уровню токсинообразования и спектру биологической активности.

Комплексные препараты токсических метаболитов исследуемых штаммов грибов получали 3-х кратным экстрагированием хлороформом (об/об 1:5) из высушенной и измельченной биомассы грибов с последующей дополнительной очисткой от слабополярных веществ липидной природы и пигментов последовательной обработкой смесью ацетонитрил: н — гексан и диэтилового эфира и н — гексана соответственно.

Установлено, что в отличие от 5-ти других использованных в эксперименте культур одноклеточных (*Anacystis nidulans*) и нитчатых (*Anabaena sp.*, *Anabaena variabilis*, *Nostoc linckia*, *Plectonema boryanum*) цианобактерий, только одна культура одноклеточной цианобактерии *Synechococcus cedrorum* проявляла высокую чувствительность к препаратам всей группы исследованных микотоксинов. При этом активность отдельных комплексных препаратов стахиботриотоксинов к *S. cedrorum* варьировала в широких пределах (диаметр зоны лизиса от 11 до 30 мм) и для большинства штаммов со-

впадала или превышала этот показатель, определенный с помощью других биотестов (дрожжи, хлорелла, кроли). Благодаря применению *S. cedrorum* в качестве тест-культуры впервые доказана токсичность двух штаммов *St. chartarum* (14186,15822,) и штаммов 13939а и 14722, токсичность которых ранее определялась только по их выраженной дерматотоксической реакции.

На основании полученных данных культура *S. cedrorum* по признаку высокой чувствительности ко всем исследованным препаратам стахиботриотоксинов на твердой и жидкой питательных средах определена как новый тест-организм для детекции этой группы веществ и может быть рекомендована для практического использования.

Определены оптимальные условия выращивания тест-культур и биотестирования микотоксинов.

СИНДРОМ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНО-ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (ОПН) ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ГРИБАМИ

Мусселиус С. Г., Рык А. А.

*НИИ скорой помощи имени Н. В. Склифосовского
Москва*

Нарушение функции печени и почек в виде специфической и неспецифической гепато- и нефропатии различной степени тяжести отмечается при употреблении в пищу различных видов грибов: бледной поганки (фаллоидиновый синдром), строчка обыкновенного (гиромитриновый синдром), паутинника оранжево-красного (орелланиновый синдром), свинушки тонкой (паксилусный синдром) и др. Специфический характер поражения паренхиматозных органов связан с химической структурой токсического вещества. Тяжесть отравления во многом определяется количеством поступившего в организм ядовитого вещества. Так, при употреблении без специальной обработки большого количества строчков — 500–600 г гепатопатия может протекать более тяжело, чем при употреблении 5 г бледной поганки. Влияние на печень микробного токсина при утрате слизистой кишечника барьерной функции под действием грибного яда является важным звеном в патогенезе развития неспецифической энтерогепатопатии. Развитие гепатопатии и нефропатии может иметь место при употреблении в пищу съедобных, но химически «загрязненных» грибов, содержащих соли тяжелых металлов, радионуклиды, пестициды и др. Степень нарушения функции печени и почек в этих случаях определяется видом химического вещества и его количеством. Непереносимость некоторых видов грибов при ферментопатии или при повышенной к ним чувствительности может привести к токсико-аллергической реакции с развитием гепато-нефропатии.

Нами на протяжении многих лет изучалась эффективность комплексного лечения острой печеночно-почечной недостаточности при отравлении ядовитыми грибами. Лечение состояло из консервативной терапии и комплекса активных методов.

Защитная печеночная терапия включала введение препаратов, оказывающих мембраностабилизирующее действие и улучшающих внутриклеточные обменные процессы: витамины группы В и С, липоевую кислоту, карсил (легалон, силибинин), гептрал, эссенциале, гепатосан, орнитетил, гепамерц и др. При развитии гипопроотеинемии и аминокислотного дисбаланса больным вводили внутривенно коллоидные растворы, белковые препараты (альбумин, плазму, протеин) и смеси аминокислот (левамин гепа, альвезин). Антибактериальное лечение и введение эубиотиков проводилось в обязательном порядке при остром гастроэнтерите, т. к. вследствие повреждения энтероцитов и кишечных ворсин происходило проникновение патогенных бактерий в глубокие слои кишечника, распространению бактериального токсина в портальный кровоток, а затем и в печень. Воздействие бактериального токсина в дополнение к грибному токсину вызывало еще большую альтерацию гепатоцитов. Гормональная и антиоксидантная терапия входили в состав комплексного лечения больных. Активные методы детоксикации были направлены на удаление из организма грибного токсина и эндогенных токсических метаболитов при развитии печеночно-почечной недостаточности. С этой целью применяли сорбционные, диализно-фильтрационные и аферетические методы по крови, плазме и лимфе. Снижение эндотоксемии и коррекция нарушенного гомеостаза играли решающую роль в развитии репаративных процессов в печени и почках.

Лечение больных с ОППН строго индивидуально, объем активной и консервативной терапии определялись общим состоянием больного, данными лабораторно-инструментальных показателей и эффективностью метода. В последние годы летальность при ОППН составила 18,7%.

ГРИБНЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ АРМЕНИИ

Нанагюлян С. Г., Басилисян М. С., Сирунян А. Л.
Ереванский государственный университет, кафедра ботаники
Министерство здравоохранения РА,
инспекция гигиены и противоэпидемиологического надзора
Ереван, Армения

В связи с участвовавшими случаями отравления грибами в Армении, возникла необходимость мониторинга состояния биоразнообразия ядовитых и дикорастущих съедобных грибов на территории республики. В разных стра-

нах мира видовое разнообразие употребляемых в пищу дикорастущих грибов различно, что связано с экологическими условиями, традиционными знаниями населения биоты съедобных видов данной местности, устойчивой урожайностью, обилием и размерами плодовых тел макромицетов. В последние годы, в связи с тяжелым экономическим положением республики, особенно в сельских местностях, отмечается усиленный интерес к грибам как продуктам питания.

Традиционно грибы принято разделять на съедобные, условно съедобные, несъедобные и ядовитые. Несмотря на то, что грибы являются ценным пищевым продуктом, в них содержится большое количество клетчатки и хитина, который плохо переваривается организмом человека. Таким образом, плодовые тела грибов, в том числе и съедобных, относятся к трудноусвояемым продуктам и рекомендуются для употребления в пищу людям со здоровым желудочно-кишечным трактом. Грибы — скоропортящийся продукт и могут вызывать легкие пищевые отравления при неправильном сборе (переросшие, червивые), транспортировке и хранении даже весьма ценных съедобных видов. Существует также реальная возможность отравления съедобными видами грибов, растущих в зоне интенсивного загрязнения. Плодовые тела и мицелий макромицетов, обитающих в экологически загрязненных условиях, аккумулируют значительное количество тяжелых металлов и продуктов неполного сгорания топлива, и могут вызывать разной степени отравления. Ядовитые свойства и характер отравления зависят от химического состава и механизма действия конкретного токсина грибов.

В результате многолетних исследований биоты макромицетов Армении выявлено более 1200 видов макроскопических грибов, из которых съедобными и условно-съедобными считаются около 300 видов. 59 видов относятся к ядовитым грибам и представляют большую опасность для жизни и здоровья людей. Найденные ядовитые грибы принадлежат в основном к агарикоидным грибам подотдела *Basidiomycotina*. Распределяются они по родам следующим образом: наибольшее количество видов содержит род *Inocybe* (17), в родах *Clitocybe*, *Tricholoma* отмечено по 6 видов в каждом, *Entoloma* — 4, *Cortinarius*, *Hebeloma*, *Amanita* — по 3 в каждом, *Hygrocybe*, *Hypholoma*, *Mycena*, *Paxillus* — по 2 в каждом, и 6 родов включают по одному ядовитому виду. Из гастеромицетов зарегистрировано всего 2 вида из рода *Scleroderma* — *S. aurantium* и *S. verrucosa*.

Для предотвращения возможных грибных отравлений среди населения, со стороны

Министерства здравоохранения РА неоднократно организовывались мероприятия, проводились семинары, круглые столы, публиковались популярные статьи в СМИ, посвященные изучаемому вопросу. Несмотря на широкую пропаганду, согласно данным Минздрава РА на 01. 12. 2002 года за последние четыре года в Армении зарегистрированы 163 случая острых пищевых отравлений шляпочными грибами, в результате которых пострадало 317 человек. К сожалению, есть и летальные исходы (13 человек). Причем,

среди пострадавших немало детей, отведавших со взрослыми дикорастущие грибы. Отмечен также случай отравления грудного ребенка грибным токсином, содержащимся в молоке матери.

За последние четыре года наибольшее число отравлений было отмечено в Лорийском и Арагатском регионах республики (166 и 43 пострадавших соответственно).

Нами были проанализированы случаи отравлений грибами, собранными в Арагатском регионе центральной части Армении. Оказалось, что чаще всего отравления надлюдались от грибов, собранных в садах и приусадебных участках в июле месяце, в жаркую погоду (до 400С). Известно, что при высокой температуре ядовитые качества грибов проявляются сильнее. Как показал анализ опроса населения, в основном семьи пострадали от употребления в пищу грибных смесей съедобных и несъедобных видов. Причем, в одном случае были использованы нескольких различных видов грибов (*Leucoagaricus leucothitus*, *Agaricus campestris*, *A. pseudoprattensis*, *Leucocoprinus pilatianus*), которые варились в алюминиевой посуде, что также могло быть причиной нежелательных отравлений.

В другом случае, как отметили пострадавшие, первые два раза после употребления грибов, отравления не было, в третий раз — отравилась вся семья. По-видимому, в кастрюлю с грибами попал ядовитый вид.

Следует отметить, что только в одном из 12 случаев были использованы ядовитые грибы из рода *Tricholoma* — *T. pardinum* (рядовка тигровая), которая относится к грибам с локальным возбуждающим действием и вызывает желудочно-кишечные расстройства. Отравление наступило при ошибочном употреблении ядовитого вида со съедобными. Симптомы отравления появились через 1-2 часа после употребления в пищу грибов и сопровождалась тошнотой, рвотой, болями в желудке, головной болью.

При осмотре одного из приусадебных участков нами был найден *Inocybe patouillardii* (волоконница Патуйяра) — опасный ядовитый гриб, который содержит токсичные вещества мускарин и мускаринин. По данным некоторых авторов, в волоконнице Патуйяра мускарин в 20-25 раз больше, чем в мухоморе красном. Очевидно, что смесь различных видов съедобных грибов с ядовитыми привела к тяжелым отравлениям.

Как показали наши исследования, отравления происходили от употребления грибов собственного сбора, а не приобретенных на рынках или у случайных лиц. Вместе с тем, с повышением спроса на грибы и расширение ассортимента, возникает необходимость специального надзора со стороны государственных учреждений за качеством грибной продукции, поступающей как на рынок, так и в другие места продажи дикорастущих видов съедобных грибов. В связи с этим, важным в профилактике отравлений ядовитыми грибами является усиление пропаганды правил сбора и использования съедобных грибов, опубликование популярных брошюр и постеров, проведение разъяснительной работы среди населения.

Работа частично выполнена при поддержке NEF.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ГРИБНЫХ ОТРАВЛЕНИЙ

Никитина О. А., Борисенко А. И., Золотарева Т. А.

*Донецкий национальный университет,
Центральная городская клиническая больница №1
Донецк, Украина*

Из 3000 видов макромицетов по меньшей мере 80 являются ядовитыми, причем многие из них растут и в нашей стране. Отравления вызывают чаще всего 20-25 видов. В Европе ежегодно регистрируется 10000 случаев отравлений грибами. Анализ отравлений в Украине показал, что на протяжении последних 10 лет санитарно-эпидемиологической службой фиксируется ежегодно в среднем от 400 до 600 случаев отравлений, а количество пострадавших доходит до 1000 человек. И если в Европе летальность при отравлении грибами составляет от 1 до 5%, то на Украине — до 10% пострадавших погибает.

В Донецкой области за последние 4 года пик отравлений приходится на 2000 год, когда из 336 пострадавших умерло 46 человек, среди них 18 детей. А за первые 9 месяцев текущего 2002 года уже отмечено 60 случаев отравлений, погибли 12 человек.

Мировой опыт свидетельствует, что причиной почти всех случаев смертельных отравлений являются либо грибы рода *Amanita*, либо грибы рода *Gyromitra*. Самым ядовитым считается *Amanita phalloides* — бледная поганка. Отравления поганкой имеют ярко выраженную сезонность: июль-октябрь месяцы, но могут возникать и в другое время года как следствие употребления консервированных грибов, среди которых оказалась бледная поганка. Шляпка гриба содержит больше токсических веществ, чем ножка. Токсические вещества *Amanita phalloides* являются производными индола — циклическими полипептидами. Практически достаточно одного гриба, чтобы вызвать отравление взрослого человека.

В условиях реанимационных отделений наиболее важным является постановка диагноза именно при отравлениях токсинами бледной поганки. По данным Центральной городской клинической больницы №1 города Донецка из поступивших с симптомами отравления грибами диагноз подтверждается только в 60% случаев, на 2-3 сутки пребывания в стационаре. Основной проблемой является сложность обнаружения специфических маркеров в биологических средах организма человека.

Существуют несколько направлений в лабораторной диагностике отравлений грибами:

- идентификация спор грибов, обнаруженных в желудочно-кишечном тракте;
- биохимический анализ кусочков грибов, содержимого желудочно-кишечного тракта, экскрементов, сыворотки крови.

Сложные биохимические методы, такие как электрофоретический анализ, высокоэффективная газо-жидкостная хроматография, Масс-спектро-

фотометрия, не всегда доступны клинической лаборатории, поэтому с практической точки зрения наиболее ценными являются фото-химические реакции. Обычно в рекомендациях по проведению реакций для определения грибов рода *Amanita*, требуется наличие кусочков гриба. Нами подобраны и апробированы фитохимические реакции определения токсинов бледной поганки в сыворотки крови. В этих методиках используются дешевые реактивы, доступные любой клинической лаборатории. Они позволяют выявлять токсины бледной поганки спустя 3-е суток с момента отравления, что немаловажно, так как больные с таким типом отравления поступают в стационар на 2-3е сутки. Параллельно с выявлением токсинов бледной поганки в сыворотке крови проводили определение АлАТ, АсАТ и билирубина. В случае положительной фото-реакции отмечался рост активности АлАТ и АсАТ, повышение содержания билирубина.

Для идентификации спор ядовитых грибов и их двойников среди съедобных грибов нами предложены таблицы сравнительной характеристики спор грибов, встречающихся в Донецком регионе: *Amanita phalloides*, *Huophiloma sublateritium*, *Huophiloma fasciculare*, *Amanita muscaria*, *Amanita panterina*, *Clitocybe dealbata* др..

РАЗНООБРАЗИЕ АГАРИКОИДНЫХ ЯДОВИТЫХ ГРИБОВ ПРИКАМЬЯ

Переведенцева Л. Г.

*Пермский государственный педагогический университет
Пермь*

Исследование агарикоидных базидиомицетов Пермской области до наших исследований носило рекогносцировочный и фрагментарный характер. К середине 20 века было отмечено всего около 50 видов агарикоидных грибов. Планомерное их исследование было начато нами в 1975 г. и продолжается до настоящего времени. Учитывая, что агарикоидные грибы являются ценным пищевым продуктом, очень важно определение видового состава съедобных и ядовитых грибов с целью пропаганды среди населения малоизвестных съедобных видов и уменьшения «рекреационного пресса» на грибы, традиционно собираемые населением. Кроме того, грибы могут стать причиной отравления в результате использования в пищу ядовитых видов, собранных по незнанию или вследствие большого сходства ядовитых грибов со съедобными.

К настоящему времени в Пермской области известен 741 вид (с внутривидовыми таксонами) агарикоидных базидиомицетов, относящихся к 101 роду и входящих в состав 16 семейств. Наибольшее количество видов (421 вид, или 57%) являются несъедобными из-за мелких размеров плодовых тел (базидиом), неприятного запаха или вкуса. Значительна доля съедобных грибов — 273 вида, или 37%. Ядовитые грибы, напротив, немногочис-

ленны (47 видов, или 6%), Они входят, преимущественно, в состав сем. *Cortinariaceae* (паутильниковые), *Tricholomataceae* (рядовковые), *Amanitaceae* (мухоморовые) (табл.). Больше всего ядовитых грибов оказалось в родах — *Inocybe* (волоконница), *Amanita* (мухомор), *Clitocybe* (говорушка).

Таблица

Таксономическая характеристика и распространение ядовитых грибов в Пермской области

Семейство	Род	Кол-во видов	В том числе по подзонам зоны тайги				лесо-степн. зона
			южная	средняя	хвойно-широколиств.	горная (южн. и средн.)	
<i>Amanitaceae</i>	<i>Amanita</i>	8	7	4	5	7	5
<i>Cortinariaceae</i>	<i>Cortinarius</i>	2	2	-	-	1	-
	<i>Galerina</i>	2	2	1	1	1	1
	<i>Inocybe</i>	15	14	4	5	4	4
<i>Entolomataceae</i>	<i>Entoloma</i>	3	3	-	-	-	-
<i>Hygrophoraceae</i>	<i>Gliophorus</i>	1	1	-	-	-	-
	<i>Hygrocybe</i>	2	2	1	1	1	1
<i>Paxillaceae</i>	<i>Paxillus</i>	1	1	1	1	1	1
<i>Strophariaceae</i>	<i>Hypoholoma</i>	1	1	-	1	1	-
	<i>Stropharia</i>	1	1	1	1	1	-
<i>Tricholomataceae</i>	<i>Clitocybe</i>	5	5	3	4	3	4
	<i>Collybia</i>	1	1	1	-	-	-
	<i>Mycena</i>	2	2	1	2	2	1
	<i>Tricholoma</i>	3	3	-	-	-	1
Всего:		47	45	17	21	22	18
То же, в % от общего:		6	7	11	7	10	8

Рассматривая распределение ядовитых видов грибов по подзонам, следует отметить, что по числу видов их больше всего в подзоне южной тайги, а наименьшее количество встречается в подзоне средней тайги (см. табл.).

Ядовитые грибы, как и другие представители агарикоидных базидиомицетов, играют очень важную роль в лесных экосистемах, входя в состав гетеротрофного блока. Все ядовитые грибы относятся к 4 эколого-трофическим группам. Среди них 24 вида (51%) являются микоризобразователями, вступающими в симбиоз с древесными растениями, 14 видов (30%) относятся к подстилочным сапротрофам, участвующим в деструкции опада, 6 видов (13%) — это гумусовые сапротрофы, а 3 вида (6%) поселяются на древесных остатках (ксилотрофы).

Ядовитые грибы отличаются по характеру воздействия на организм человека, что связано с их химическим составом. Ядовитые грибы, растущие на территории Пермской области, можно разделить на 3 группы. К первой группе причислены смертельно ядовитые грибы с выраженным плазмолитическим действием. В них содержатся ядовитые вещества — фаллоидин, фал-

лоин, фаллоцин, фаллизин, аманитины, аманин и др. В пределах Пермской области обнаружены: бледная поганка (*Amanita phalloides* (Vaill.: Fr.) Link), мухомор вонючий (*Amanita virosa* (Lam.) Bertillon), галерина окаймленная (*Galerina marginata* (Batsch) Kӓhner).

Во вторую группу включают грибы, воздействующие на нервные центры. В состав этих грибов входят такие ядовитые соединения, как мускарин, мускаридин и другие токсины с нейротропным действием. К грибам с подобными веществами относятся мухоморы: красный (*Amanita muscaria* (L.: Fr.) Pers.), пантерный (*A. pantherina* (DC: Fr.) Krombch.), лимонный (*A. citrina* (Schaeff.) Pers.), а также говорушка белая (*Clitocybe candicans* (Pers.: Fr.) P. Kumm.), говорушка побеленная (*C. dealbata* (Sowerby: Fr.) P. Kumm.), строфария Горнеманна (*Stropharia hornemannii* (Fr.: Fr.) S. Ludell et Nannf.), мицена розовая (*Mycena rosea* (Bull.) Sacc. et Dalla Costa), волоконницы (*Inocybe rimosa* (Bull.: Fr.) P. Kumm., *I. sambucina* (Fr.: Fr.) Quel.) др.

К третьей группе грибов с локальным возбуждающим действием относятся наибольшее количество видов, употребление которых приводит к легким отравлениям, сопровождающимся нарушениями функций пищеварения. Такими грибами являются ложные опята: опенок серно-желтый ложный (*Huyloloma fasciculare* (Huds.: Fr.) P. Kumm.), опенок кирпично — красный ложный (*H. lateritium* (Schaeff.: Fr.) Schroet) (некоторые исследователи считают ложные опята более ядовитыми), а также рядовка бело-коричневая (*Tricholoma albobrunneum* (Pers.: Fr.) P. Kumm.), рядовка жабыя (*T. bufonium* (Pers.: Fr.) Gillet) и др. Рядом ученых к этой группе причислены так называемые «условно съедобные» грибы с едким вкусом (волнушки, горькушки, некоторые виды сыроежек и др.), для которых требуется предварительная обработка: вымачивание, отваривание.

Необходимо специально выделить широко распространенный гриб — свинушку тонкую (*Paxillus involutus* (Batsch: Fr.) Fr.), которая раньше считалась съедобным грибом, и в настоящее время собирается многими грибниками. Однако отравление свинушкой может проявиться даже через несколько лет после регулярного ее использования в виде специфического аллергического заболевания. Симптомы заболевания разнообразны, может происходить нарушение функции почек, на основании чего она была причислена к ядовитым грибам.

Особо следует отметить распространенные съедобные грибы, становящиеся ядовитыми лишь при одновременном употреблении алкоголя. Это такие виды, как навозник чернильный (*Coprinus atramentarius* (Bull.: Fr.) Fr.), навозник мерцающий (*C. micaceus* (Bull.: Fr.) Fr.), говорушка булавоногая (*Clitocybe clavipes* (Pers.: Fr.) P. Kumm.), дубовик оливково-бурый (*Boletus luridus* Schaeff.: Fr.).

Некоторые ядовитые грибы встречаются крайне редко, распространение их ограничено единичными местообитаниями, поэтому в Красную книгу Пермской области предлагается занести бледную поганку, впервые обнаруженную в 1997 г. на юге области в Чайковском (административном) районе.

Таким образом, в Пермской области отмечено 47 видов ядовитых грибов, что составляет 6% от общего количества агарикоидных базидиомицетов. Для

лесных экосистем они имеют большое значение как представители гетеротрофного блока, включающиеся в круговорот веществ и энергии. Для большинства жителей Пермской области ядовитые грибы не представляют большой опасности, так как они хорошо распознаваемы и известны каждому с детства. Обеспокоенность вызывает лишь нахождение на юге области бледной поганки, которую легко можно спутать со съедобными сыроежками и шампиньонами.

РОСТ *STACHYBOTRYS CHARTARUM* НА ПРИРОДНЫХ И ТЕХНОГЕННЫХ СУБСТРАТАХ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ

*Петрунина Я. В., Еланский С. Н.,
Лаврова О. И., Лихачев А. Н.*

*Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова,
Биологический ф-т., каф. микологии и альгологии,
Москва
ВНИИ Фитопатологии РАСХН
Московская обл., п/о Б. Вяземы*

Stachybotrys chartarum (Ehrenb.) Hughes — сапротрофный микромицет, в естественных условиях обитающий в почве, на растительных остатках. В антропогенной среде гриб переходит на целлюлозосодержащие техногенные субстраты: бумагу, картон, обои, некоторые строительные смеси, деревянные и фанерные конструкции и т. д. Практическая значимость гриба обусловлена тем, что *S. chartarum* синтезирует токсины, оказывающие сильное действие на организм человека и животных: роридин E, сагратоксины F, G, H, триховееролы, триховееррины, веррукарол, веррукарин J. Их присутствие отмечено во всех морфологических структурах гриба и в культуральной жидкости. Помимо токсинов гриб способен производить иммуносупрессоры (например, циклоспорин и летучие органические соединения (1-butanol, 3-methyl-2-butanol, 3-methyl-1-butanol, and thujopsen). Неоднократно отмечалась связь между жалобами людей на плохое самочувствие, связанными с Indoor Air Quality и ростом *S. chartarum*. В популяциях *S. chartarum* выявлены токсичные и нетоксичные культуры, различающихся гемолитической активностью, содержанием токсинов и структурой генома.

Целями работы были изучение роста *S. chartarum* на природных и техногенных субстратах при их частичном погружении в водную среду и выявление вероятных взаимосвязей между приуроченностью штаммов к субстратам, их географическим происхождением и комплексом признаков, включающих морфометрические параметры, токсичность, устойчивость к фунгицидам и структуру генома штаммов *S. chartarum*.

Для изучения скорости роста на различных природных и техногенных материалах были отобраны три штамма из разных регионов. Изучение их

роста на природных и техногенных образцах в контакте с жидкой водой показало, что максимальный рост мицелия наблюдается на сегментах образца, находящихся выше места контакта с водной фазой. Ниже уровня воды в большинстве случаев роста не отмечалось. Оккупирование мицелием вышележащих сегментов коррелировало с водоемкостью образца. Скорость роста на техногенных субстратах различалась у исследуемых штаммов. Рост на природных образцах мицелиев тех же исследуемых штаммов, напротив, происходил с равной скоростью. Наиболее подходящими для развития *S. chartarum* растительными материалами оказались стебли и семена злаков: овса, пшеницы, пырея. На растительных остатках других культур (семена рапса, льна, клевера, стебли и листья осота, зверобоя, листья клена, листья и фрагменты веток барбариса) рост мицелия и спороношение были сильно затруднены. Оптимальной температурой для роста всех штаммов было +25°C.

Для сравнительного анализа были взяты штаммы гриба выделенные из географически удаленных регионов России и с разных субстратов: 18 изолятов из Московской области, 20 — из Томской области, 13 — из прочих регионов (Архангельская, Нижегородская, Пензенская обл., респ. Карачаево-Черкессия, Бурятия, один штамм из Армении). Выделение проводилось с техногенных целлюлозосодержащих материалов и с природных субстратов. Сравнивались размеры спор, токсичность (тест на *Paramecium caudatum*), устойчивость к фунгицидам «Беномил», «Олилен» и «Тилт», был проведен ПЦР — анализ структуры генома с помощью праймера, комплиментарного коровой последовательности ретропозона SINE.

Сравнительное исследование показало, что в выборках из удаленных регионов и с разных субстратов встречаются изоляты, различающиеся по уровню токсичности, устойчивости к фунгицидам и структуре генома; значимых различий в размерах спор не обнаружено. Выявлены разные типы вегетативной совместимости. Анализ устойчивости к фунгициду «Олилен» показал сильную разницу в долях чувствительных и слабоустойчивых штаммов среди выделенных с природных и техногенных целлюлозосодержащих материалов. Исследование структуры генома с помощью ПЦР не выявило связи между структурой генома, группами исследованных признаков и приуроченностью штаммов к территориям или субстратам.

Обнаруженные различия в проявлении комплекса исследованных признаков свидетельствуют о внутривидовом разнообразии *S. chartarum* в разных удаленных частях ареала и начальном этапе дивергенции его популяции по эколого-трофическим нишам.

S. chartarum — один из тех грибов, чье присутствие в помещениях однозначно плохо влияет на самочувствие людей. Работами многих авторов показано, что этот гриб обнаруживается в большинстве помещений после протечек и подтоплений. Поэтому необходимо проведение исследований грибостойкости материалов к *S. chartarum*, для чего желательно его введение в список видов, используемых для тестирования грибостойкости (ГОСТ 9. 048-89, 9. 049-91, ISO 846).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант N 00-04-48750).

МАРКЕРЫ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В СОМАТОГЕННОЙ СТАДИИ ОСТРЫХ ЭКЗОГЕННЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ГРИБАМИ *AMANITA PHALLOIDES*

*Попов П. А., Лаврентьев А. А.,
Леженина Н. Ф.*

*Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко,
Кафедра анестезиологии и реаниматологии
Воронеж*

Произведено комплексное клинико-лабораторное обследование более 200 случаев отравлений грибами *Amanita phalloides*, сопровождавшихся явлениями цитолитической гепатопатии I-III степени. Установлено, что клиническая картина данных отравлений уже в ранние сроки во многом обусловлена появлением в циркулирующей крови компонентов эндогенной интоксикации вследствие интенсивного цитолитического повреждения гепатоцитов аманитотоксинами и вторичных метаболических нарушений. Выявлены следующие универсальные маркеры эндогенной интоксикации:

- изменения в лейкоцитарной системе;
- гипопроотеинемия;
- иммуносупрессия по Т- и В-звену;
- повышение концентрации среднемолекулярных пептидов (СМП) плазмы;
- билирубинемия и гиперферментемия (АсАТ, АлАТ);

Лейкоцитарная реакция организма на интоксикацию (лейкоцитоз, повышение значений лейкоцитарного индекса интоксикации) развивалась через 12-24 часов с момента поступления больного в токсикологический стационар Воронежской ОКБ в 45 % случаев. Выраженная гипопроотеинемия выявлялась в соматогенной стадии тяжелых форм отравлений II-III степени в 60 % случаев. Выраженность иммуносупрессии коррелировала со степенью тяжести гепатопатии и интоксикационного синдрома. Билирубинемия и цитолитическая гиперферментемия наблюдалась решительно у всех больных через 6-12 часов с момента поступления яда в организм, достигая максимальных значений через 1-5 суток. Умеренное повышение концентрации СМП плазмы имело место в 70 % наблюдений, причем как в соматогенной, так и в поздней токсикогенной стадиях отравления. Таким образом, наиболее специфичным показателем степени тяжести данных состояний являются продукты цитолиза гепатоцитов (билирубин, аминотрансферазы); с прогностической целью необходимым также является определение концентрации СМП, как наиболее универсального маркера эндотоксикоза.

Данный патогенетический подход, позволяющий рассмотреть экзогенные отравления грибами *Amanita phalloides* с позиций эндотоксикоза, способствовал разработке и внедрению адекватных принципов дезинтоксикационной терапии, что позволило существенно повысить эффективность лечения данных состояний в нашей клинике.

ЭНТЕРОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ МИКРОМИЦЕТОВ *ASPERGILLUS FLAVUS*

Потатуркина-Нестерова Н. И., Тарарак Т. Я.
Ульяновский государственный университет
Ульяновск

Проблема контаминации микотоксинами продуктов питания чрезвычайно актуальна, она является составной частью глобальной проблемы загрязнения биосферы (R. R. Dalvi, D. K. Salunke, 1990; H. P. van Edmond, 1991; G. W. Francis, 1998). Большую опасность для здоровья человека и животных представляют плесневые микроскопические грибы, продуцирующие токсичные метаболиты — микотоксины (В. А. Тутельян, Л. В. Кравченко, 1985; Н. П. Елинов, 1989; И. С. Югай и соав., 1991).

Ведущая роль среди грибов, выделяющих микотоксины, отводится микромицетам рода *Aspergillus*, в частности *A. flavus* (Т. Дикова, 1991; П. С. Новиков и соав., 1991). Они часто являются причиной микотоксикозов у человека и животных (A. L. Sinha, R. S. Ranian, 1990; J. F. Beti et al., 1995). Установлено мутагенное, тератогенное действие микотоксинов *A. flavus*, их выраженный гепатотропный и канцерогенный эффект, способность ингибировать синтез ДНК, РНК эукариотических клеток, иммуноглобулинов и др (В. П. Антипенко и соав., 1992; О. В. Нефедов, 1996; J. A. Hervas et al., 1993). В макроорганизме микотоксины прежде всего взаимодействуют с кишечником, однако, их токсическое воздействие на него остается мало изученным.

Целью работы явилось изучение энтеротоксического действия метаболитов *A. flavus*.

В работе использовали метод заражения изолированных лигатурами сегментов тонкой кишки кроликов. Через 24 часа после заражения брюшную полость вскрывали, отмечали наличие гиперемии и дилатации зараженных петель, количество и характер экссудата в них. Объем жидкости в сегментах кишки измеряли путем отсасывания ее шприцем (в мл), отмечали длину сегментов (в см) и вычисляли индекс дилатации — отношение объема экссудата к длине сегмента. Положительной реакцией считали тогда, когда индекс дилатации был не менее единицы. После этого проводили морфологические исследования пораженных участков кишки. В изолированные сегменты инокулировали фильтрат культуры *A. flavus*, выращенной в среде Сабуро.

Всего было заражено 55 изолированных участков тонкой кишки, из которых в 18 случаях развилась резко выраженная реакция (ИД > 2,0), в 30 — выраженная реакция (ИД > 1,0) и в 7 — отрицательная реакция (ИД < 1,0). При положительной реакции макроскопически определялись гиперемия и дилатация зараженных сегментов, находящийся в просвете экссудат представлял собой желтую серозную жидкость, при сильно выраженной реакции — с примесью слизи и крови, которая равномерно окрашивала жидкость или находилась в ней в виде сгустков.

Микроскопически обнаруживались расширенные кровеносные сосуды с признаками стаза, сладжирования и геморрагиями в периваскулярную

ткань. Строма слизистого и подслизистого слоев была инфильтрирована лейкоцитами и лимфоцитами, в отдельных полях зрения встречались очаговые лимфоидные скопления. Клетки покровного эпителия имели нечеткие границы, зернистую или вакуолизированную цитоплазму. Группы клеток с признаками пикноза и лизиса располагались в просвете, заполняя пространство крипт. Бокаловидные клетки, увеличенные в объеме, отличались светлой цитоплазмой и интенсивно окрашивались ШИК-реактивом в фиолетовый цвет.

Известно, что для афлатоксинов температурой плавления с разложением является 240–290С (Davidson, 1969), для афлатоксина В1 — 296С. Поэтому с целью исключения возможного содержания в исследуемом фильтрате других токсических веществ его нагревали в термокамере до 250С, после чего вводили в изолированные сегменты тонкой кишки кроликов. Через сутки из 55 зараженных сегментов в 18 наблюдали резко выраженную реакцию (ИД>2,0), в 31 — выраженную реакцию (ИД>1,0) и в 6 сегментах — отрицательную реакцию (ИД<1,0).

Также как и в предыдущей серии при положительной реакции макроскопически отмечались дилатация зараженных сегментов с участками гиперемии, Экссудат, находившийся в просвете петель с резко выраженной реакцией, представлял собой серозную жидкость, часто окрашенную кровью, с комочками слизи. При положительной реакции — желтоватую серозную жидкость, в которой только в трех случаях были обнаружены сгустки крови.

Микроскопически отмечались значительная дилатация кровеносных сосудов, диапедез эритроцитов. Ткани слизистого и подслизистого слоев инфильтрированы лимфоцитами, встречались очаговые лимфоидные инфильтраты. Поверхностный эпителий имел дистрофические изменения, нередко наблюдалось его слущивание. В бокаловидных клетках отмечалась ШИК-позитивная реакция.

Введение в изолированные петли тонкой кишки кроликов фильтрата *A. flavus*, прогретого до 350С, положительной реакции не вызывали ни в одном случае (ИД<1,0).

Таким образом, установлено, что фильтрат *A. flavus*, содержащий метаболиты этих микромицетов, обладает выраженным энтеротоксическим действием, в основном, за счет содержащегося в нем афлатоксина В1.

ПРИЧИНЫ ОТРАВЛЕНИЯ ГРИБАМИ НА НИЖНЕМ ДОНУ

Русанов В. А.

*Ростовский государственный университет
Ростов-на-Дону*

В течение многих столетий грибы для населения России были и остаются одним из традиционных источников пищи, тем более важных, что для их возобновления до недавнего времени не требовалось никаких усилий.

Россияне привыкли видеть на столе грибные блюда, а в тяжелые времена, которыми так изобилует история нашего государства, грибы без преувеличения «спасали» от голода население целых регионов.

Вполне естественно, что на огромных пространствах нашей страны далеко не все территории изобиловали грибами. В лесистых местностях и в горах сбор грибов был традиционным занятием многих поколений, на открытых пространствах степей население собирало только отдельные виды. Кроме того, существовали и до сих пор имеют место национальные традиции, предпочтение массовому сбору и употреблению тех или иных видов. В большинстве стран и регионов население собирает только несколько основных, экономически значимых и наиболее распространенных видов.

В Ростовской области относительно мало естественных лесов и искусственных лесонасаждений, поэтому она традиционно считается бедной грибами. Это мнение укоренилось в сознании многих жителей крупных городов, поддерживается публикациями в печати представителей различных официальных инстанций и совершенно не основано на каких-либо научных данных. Между тем история научного изучения грибов на Дону охватывает почти вековой период. Наибольший вклад в профессиональное изучение съедобных и ядовитых грибов Ростовской области внесли кандидаты биологических наук Л. И. Красов (1950-65 гг.), А. М. Волкова (1970-80 гг.), С. Л. Выщепан (1980-90 гг.), В. А. Русанов (1980-2002 гг.). Список макромицетов насчитывает сейчас свыше 650 видов, около 250 из них — съедобны. Разумеется, только лишь 30-40 видов собирается населением. Но, тем не менее, съедобные грибы на Нижнем Дону есть, это объективная реальность и с нею надо считаться. Другое дело, можно ли собирать грибы, как и где это лучше делать.

Грибы — очень быстрорастущие формы организмов с весьма своеобразным и интенсивным обменом веществ, требующих для своего развития определенного комплекса физико-химических факторов среды и биологического окружения. В случае резкого несоответствия этих условий определенному оптимуму, возникают нарушения обмена веществ, приводящие к появлению свободных радикалов, оказывающих резкое выраженное отрицательное действие на организм человека. Как следствие — пищевое отравление внешне вполне нормальными грибами, относящимися к известным съедобным биологическим видам. Вообще надо помнить, что принадлежность к съедобным или несъедобным видам у грибов определяется в том числе и географически. Какие же причины могут вызывать образование свободных радикалов в съедобных видах грибов? Их несколько:

- нарушение температурного режима, в том числе резкие колебания температуры воздуха и почвы;
- произрастание грибов в несвойственных для данных видов условиях (на других субстратах, на нетипичных почвах и т. д.);

— воздействие экстремальных значений экологических факторов (повышенный радиационный фон, химическое загрязнение почв, в том числе солями тяжелых металлов, и пр.);

— старение плодовых тел (сбор и употребление после длительного хранения свежесобранных грибов) и др.

Как видно из этого перечня, имеется достаточно много причин, способных повлиять на пищевую состоятельность съедобных видов грибов и вызвать отравление. И все же в нашем народе есть тяга к грибам, и обусловлена она как национальными традициями, так и трудными экономическими условиями жизни основной части населения, необходимостью поиска дополнительных дешевых источников пищи.

К сожалению или радости, но опыт нашей страны свидетельствует о том, что одними запретами сбора грибов проблем отравления не решить. Что же можно предложить страждущему грибам населению?

1. Активнее развивать в регионе промышленное культивирование съедобных грибов. Необходимо всячески расширять и наращивать объемы получения культивируемых грибов, сделать доступными для населения грибы, выращенные в строго контролируемых условиях. Помимо прочих благ, это будет способствовать снижению числа грибных отравлений.

2. Создать на базе Ростовского государственного университета региональный микологический консультационный центр с участием специалистов-микологов РГУ и токсикологов областного центра санэпиднадзора. В задачи этого центра могли бы входить консультационные услуги населению по определению видовой принадлежности (идентификации) грибов, их токсичности, пропаганда знаний о грибах, обучение методам культивирования.

3. Организовать выдачу лицензий на сбор грибов, что легализует их сбор законопослушными гражданами и сделает минимальным риск отравления.

4. Создать базу данных по всем случаям пищевого отравления грибами и организовать анализ накопленного статистического материала, что также способствовало бы выяснению причин грибных отравлений в регионе, полному сведению о распространении ядовитых видов и снижению числа отравлений.

5. Способствовать активной пропаганде среди населения видов несъедобных и ядовитых видов грибов: *Amanita phalloides*, *A. pantherina*, *A. verna*, *Hypholoma fasciculare*, *H. sublateritium*, *Inocybe patouillardii*, *I. maculate*, *I. hirtella*, *I. lacera*, *I. asterospora*, *Clitocybe dealbata*, *C. cernusata*, *C. rivulosa*, *Tricholoma pardinum*, *Entoloma sericeum*, *E. vernum*, *Lepiota brunneo-incarnata*, *L. cristata*, *L. felina*, *L. lilacea*, *L. scobinella*, *L. subincarnata*.

Таким образом, для борьбы с грибными отравлениями необходимы совместные усилия специалистов, добрая воля и стремления к знаниям о грибах у населения, при активной поддержке муниципальных и региональных властных структур. Это позволит не только сохранить жизни и здоровье наших земляков, но и способствовать увеличению доли грибных блюд в их пищевом рационе.

ОТРАВЛЕНИЕ ГРИБАМИ ВИДА СТРОЧОК ОБЫКНОВЕННЫЙ

Рык А. А., Мусселиус С. Г.

*НИИ скорой помощи имени Н. В. Склифосовского
Москва*

Употребление в пищу строчка обыкновенного (*gyromitra esculenta*) вызывает тяжелое, иногда смертельное отравление. Токсическими веществами являются гиromитрин и его соединения — этилиден-гиromитрин и N-монометил-гидразин. В зависимости от места произрастания грибов, погодных условий и других факторов концентрация токсических соединений колеблется от 50 до 1600 мг на кг свежих грибов. Смертельная концентрация гиromитрина для взрослого человека составляет 20–50 мг/кг, для детей 10–30 мг/кг. При пересчете на количество свежих грибов смертельная концентрация достигается при приеме взрослым человеком 400–1000 г грибов. Максимальное количество высокотоксичных соединений образуется в организме через 2–2,5 часа после приема в процессе метаболизма, протекающего по пути «летального синтеза». В наших наблюдениях у 17 больных отравление развилось в следующих случаях: 1. При употреблении в пищу грибов при отваривании менее 25–30 мин., без смены раствора. 2. При употреблении в пищу отвара грибов. 3. При неоднократном употреблении грибов (более 1–3 раз) и при коротком промежутке времени между отдельными приемами (менее 24–48 часов), даже в условиях предварительной их обработки. 4. При особом состоянии ферментных систем организма, т. е. при сниженной активности защитных ферментных систем, обеспечивающих ацетилирование токсичных метаболитов гидразина (случаи расценивались как высокая индивидуальная чувствительность пациента к грибному токсину).

При отравлении строчками латентный период составлял 3–25 часов. У всех больных отмечались боли в эпигастрии, острый гастронтерит. У 4 больных были выявлены гемолиз, гемоглобинурия. На 2-е–3-и сутки присоединились поражения печени и почек. Поражение печени у 13 больных характеризовалось гепатопатией II–III степени. В крови определялись острый гемолиз (свободный гемоглобин в плазме 4,8–5,2 г/л), гипербилирубинемия (общий билирубин $61,5 \pm 5,9$ мкмоль/л) за счет непрямой фракции, гиперферментемия (АСТ $1,3 \pm 0,07$ мкмоль/ч · мл, АЛТ $3,65 \pm 0,29$ мкмоль/ч · мл, ЛДГ $14,4 \pm 0,53$ мкмоль/с · л⁻¹). При УЗИ и доплерографии размеры печени были увеличены. Отмечалось умеренное диффузное уплотнение паренхимы. Индекс резистентности на внутрипеченочных артериях повышался до 0,63–0,65. Поражение почек в виде нефропатии легкой и средней степени тяжести было отмечено у 3 больных. Лечение больных включало детоксикацию, коррекцию гомеостаза, создание оптимальных условий для развития репаративных процессов в пораженных органах и системах. Профилактикой полиорганной патологии являлось раннее применение активных методов лечения: плазмафереза, гемофильтрации, диализа с ксеногенными гепатоцитами, гемо- и лимфосорбции. Внутрипортальная терапия,

гастроинтестинальная сорбция и гипербарическая оксигенация входили в состав лечения. Из 17 больных умер один больной 38 лет, употреблявший неоднократно в течение 2 дней строчки с отваром. Больной был госпитализирован в состоянии глубокого сопора на 4-е сутки после приема грибов. Проводимое лечение эффекта не имело. Смерть больного наступила через 8 часов после поступления в клинику от остановки сердечной деятельности и дыхания на фоне массивного желудочного кровотечения.

На основании проведенного исследования можно заключить, что употребление в пищу грибов вида строчок обыкновенный сопряжено с высоким риском развития острого гемолиза и токсической гепато-нефропатии. При первых симптомах отравления (острый гастроэнтерит) показана экстренная госпитализация больного в токсикологическое отделение или отделение реанимации для проведения комплексного детоксикационного лечения и защитной печеночной терапии.

ПРОБЛЕМА ПИЩЕВЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ДИКОРАСТУЩИМИ ГРИБАМИ В ЛИПЕЦКОЙ ОБЛАСТИ

*Савельев С. И., Сарычева Л. А.,
Долгова А. В., Хвенчук Е. В.*

*ФГУ Центр госсанэпиднадзора в Липецкой области
Заповедник «Галичья гора»
Липецк*

За последнее десятилетие (и особенно в период экономического кризиса) проблема пищевых отравлений дикорастущими грибами в Липецкой области приобрела статус социальной. В отдельные годы ошибочный сбор и употребление ядовитых грибов приводил к массовым пищевым отравлениям и потерям десятков жизней.

Так, в 1997 г. в области было зарегистрировано 207 пострадавших от отравления грибами, из них 16 — летальных исходов, в 1999 г. соответственно 301 и 16, в 2000 г. — 135 и 3, в 2001 г. — 116 и 13. Следует особо подчеркнуть, что среди пострадавших 23,7% — дети, взрослое население составляет 66,7%.

Основными причинами отравлений являются незнание различий между съедобными и ядовитыми грибами, пренебрежение правилами их сбора (сбор грибов в жаркие периоды лета и др.) и переработки, употребление малоизвестных и нетрадиционных видов грибов.

На территории Липецкой области обитает около 500 видов грибов — макромицетов, среди которых 165 видов считаются съедобными, 36 — ядовитыми (в том числе и смертельно ядовитыми), а остальные условно съедобными и несъедобными.

Установление видового состава ядовитых грибов является первостепенной задачей микологических исследований для территории всей России, в том числе и для Липецкой области. Для региона выявлены наиболее опасные виды макромисцетов. Из сумчатых грибов, в плодовых телах которых содержится стойкий токсин гиromитрин, обладающий гемолитическим и гепатогенным воздействием, следует указать *Gyromitra esculenta* (Fr.) Fr., *G. gigas* (Krombch.) Cke., *G. infula* (Schaeff.: Fr.) Qell.

Среди базидальных грибов ядовитыми видами с резко выраженным плазмотоксическим, гемолитическим и гепатотропным действием являются представители рода *Amanita*: *Amanita citrina* (Schff.) S. F. Gray., *A. muscaria* (L.: Fr.) Hooker., *A. pantherina* (Fr.) Secr., *A. porphiria* (Fr.) Secr., *A. phalloides* (Vaill.: Fr.) Secr., *Amanita virosa* Secr. С 1995 года отмечено увеличение численности на всей территории Липецкой области бледной поганки (*A. phalloides*) — основного вида, являющегося причиной массовых отравлений.

Самый ядовитый гриб, бледная поганка, содержит в себе сразу 10 видов различных ядов, поражающих и нервную, и пищеварительную, но главное — кроветворную систему. Гемолитический эффект таков же, как у яда гюрзы, и также отсутствует противоядие. Смертельная доза для большинства людей — 0,03 грамма яда, такое количество его содержится в половине плодового тела гриба — убийцы. Полный цирроз печени наступает на вторые сутки, и спасения нет. Отмечается сочетание отравления грибами на фоне алкогольного опьянения, что усугубляет тяжесть отравления ядовитыми грибами.

Из семейства *Cortinariaceae* наиболее опасны виды рода *Inocybe*, почти все они ядовиты и содержат токсин мускарин, концентрация которого значительно (в сотни раз) превышает его содержание в мухоморовых. Данный род представлен 26 видами, но наиболее часто встречающимися и ядовитыми, с относительно крупными плодовыми телами, являются *Inocybe asterospora* Quel., *I. erubescens* Blytt. et Rostrup, *I. geophylla* (Fr.: Fr.) Kumm., *I. praetervisa* Quel., *I. rimosa* (Bull.: Fr.) Kumm.

Свинушка тонкая (*Paxillus involutus* Batsch.: Fr) — один из самых распространенных грибов Липецкой области, ежегодно дающий массовые урожаи плодовых тел. Несмотря на то, что сбор и продажа свинушки в России запрещены санитарными правилами заготовки грибов, данный вид по-прежнему служит объектом массового сбора. Близкородственный вид — *Paxillus atramentarius* следует исключить из числа условно съедобных грибов и отнести его к ядовитым грибам.

К группе ядовитых базидальных грибов также относятся *Agaricus xanthodermus* Gen., *Clitocybe cerussata* (Fr.) Kummer, *Cl. dealbata* (Fr.) Kumm., *Cl. rivulosa* (Pers.: Fr.) Kumm., *Cortiharius orellanus* Fr., *Entoloma sericeus* (Fr.) Quel., *E. verna* Lund., *Galerina marginata* (Batsch.) Kuhn., *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quel., *Hypholoma fascicular* (Fr.) Kumm., *H. sublateritium* (Fr.) Quel., *Lactarius helvius* Fr., *Lepiota cristata* (Fr.) Kummer., *Mycena pura* (Fr.) Kumm., *Scleroderma citrinum* Pers. *S. verrucosum* Pers. *Tricholoma album* (Fr.) Kumm., *T. albobrunneum* (Fr.) Kummer, *T. sulphureum* (Fr.) Kummer, *T. pardium* (Fr.) Quel., *T. virgatum* (Fr.: Fr.) Kumm.

В последние годы с целью предупреждения отравления грибами в области проводится широкая разъяснительная работа среди населения с использованием средств массовой информации. Издан иллюстрированный атлас для населения «Съедобные и ядовитые грибы Липецкой области», который содержит справочную информацию о 170 видах съедобных, условно съедобных и ядовитых грибов, встречающихся на территории области, дано отличие ядовитых грибов от съедобных, помещен фенологический календарь сбора грибов. Данное издание распространено среди библиотек учебных заведений, учреждений культуры и здравоохранения, центров госсанэпиднадзора в городах и районах. Совместно с областной организацией Всероссийского общества охраны природы, Госкомэкологией г. Липецка разработана и распространена памятка «Любителям тихой охоты». Подготовлено обращение к населению и в виде листовок расклеивалось в местах массового пребывания людей. Проводятся выступления медицинских работников и миколога по радио и телевидению, публикуются статьи в областных и местных газетах.

Однако проблема пищевых отравлений дикорастущими видами грибов в Липецкой области продолжает оставаться актуальной и на сегодняшний день. На ближайшее время запланировано проведение широкой разъяснительной работы среди населения с повторным переизданием атласа. Кроме этого необходимы специальные исследования группы условно ядовитых видов грибов, несовместимых с алкоголем (таких как *Boletus luridus*, *Clytocybe clavipes*, *Laetiporus sulphureus*, представители рода *Coprinus*).

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА

*Соколова Г. Д., Рудаков О. Л.,
Девяткина Г. А., Савченко Л. Ф.*

*ВНИИ фитопатологии
Московская область*

Дезоксиниваленол (ДОН) — токсичный для человека и домашних животных метаболит некоторых грибов рода *Fusarium*, поражающих зерновые культуры. Это весьма устойчивый к физико-химическим воздействиям микотоксин, слабо разрушающийся в процессе переработки зерна, вследствие чего может содержаться в пищевых зернопродуктах.

Зерно, содержащее ДОН сверх допустимого уровня, рекомендуется разбавлять нетоксичным зерном. Фуражное зерно предложено детоксифицировать обработкой раствором пиросульфата натрия или щелочными растворами. Более биологически приемлемых способов детоксикации зерна пока нет.

Целью исследований являлась оценка возможностей микробиологической конверсии ДОН. Проведен скрининг около двух десятков видов микромицетов, выделенных из разных типов почв, растений, а также макромицетов, по их способности уменьшать концентрацию добавленного в питательную среду ДОН в условиях глубинного культивирования. Большинство видов было толерантно по отношению к ДОН в концентрации от 1 до 10 мг/л. Вес сухой биомассы грибов через 7 сут. инкубации мало отличался от контрольных вариантов, выращенных в идентичных условиях, но без добавок ДОН, хотя в ряде случаев наблюдалась задержка роста грибов в первые 1 — 3 сут. или изменение уровня спорообразования. Концентрация ДОН в среде под влиянием целого ряда грибов менялась незначительно (не более чем на 20 %). Наибольшую эффективность показал изолят гриба *Mucor 71*, который уменьшал содержание ДОН в среде на 60 % после 7 сут. культивирования. В качестве одного из продуктов биотрансформации идентифицирован 3-ацетил-ДОН, на который приходилось порядка 10 % изменения содержания ДОН. В вариантах с другими грибами появления 3-ацетил-ДОН не отмечалось. Предполагается, что ацетилирование может являться одним из этапов последующих превращений ДОН в менее токсичные продукты. По литературным данным ацетилирование ДОН осуществляется под действием 3-О-ацетилтрансферазы — продукта гена *Tri101*, выделенного из грибов рода *Fusarium*. При этом отмечалось, что этот ген располагается вне кластера генов, ответственных за биосинтез трихотеценовых микотоксинов, и может экспрессироваться независимо в присутствии трихотеценов. Факт обнаружения возможности ацетилирования ДОН грибами из другого рода отмечается впервые.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЯДОВИТЫХ И СЪЕДОБНЫХ КСИЛОТРОФНЫХ ГРИБОВ В КУЛЬТУРЕ. I. *HYPHOLOMA FASCICULARE* (FR.) KUMM.

Сухомлин М. Н.

*Донецкий национальный университет
Донецк, Украина*

Ядовитые макромицеты по своей эколого-трофической принадлежности, как правило, относятся к микоризным или напочвенным сапротрофам. Наиболее ядовитые макромицеты относятся к микоризным грибам. Изучение культуральных характеристик таких грибов затруднено в связи со сложностью содержания их на стандартных средах. В аксенической культуре они растут медленно и в отсутствие фитобионта не способны завершать цикл развития и производить плодовые тела. В связи с этим интересным является

изучение, вырабатывающих токсины дереворазрушающих грибов. Они достаточно легко выделяются в культуру, а некоторые из них способны формировать плодовые тела на стандартных средах. К ним относятся *Hypholoma fasciculare* (Fr.) Kumm. и *Hypholoma sublateritium* (Fr.) Quel. Данные относительно ядовитости этих грибов несколько противоречивы: от случаев острого отравления этими грибами до проявления лишь гастроэнтеральных нарушений, острой головной боли и потери сознания. Многие авторы относят их к третьей, наиболее опасной группе ядовитых макромицетов, с резко выраженным плазматоксическим действием.

Целью наших исследований было изучение физиолого-морфологических свойств *Hypholoma fasciculare* и дереворазрушающих неядовитых видов в культуре. Выявление особенностей данного ксилотрофного базидиомицета, отличающегося от других ксилотрофов способностью производить токсические вещества, позволит изучить свойства грибов одной экологической группы, но отличающихся токсичностью.

Для исследований использовали три штамма *H. fasciculare*, а также культуры съедобных видов *Panus tigrinus* (Fr.) Sing., *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm., *Oudemansiella mucida* (Schrad.: Fr.) Hoehn., *Flammulina velutipes* (Fr.), *Tricholomopsis rutilans* (Schaeff.: Fr.) Siung. и ряда других видов. В мицелии данных видов определяли содержание белков, аскорбиновой кислоты и активность пероксидазы. Все виды изучали на проявление антагонистической активности в отношении опасного патогена хвойных пород гриба *Heterobasidion annosum*.

В результате исследований изучены морфологические особенности исследуемых видов грибов в культуре.

Скрининговые исследования теператерного режима для роста *H. fasciculare* показали, что оптимальной является $t=22^{\circ}\text{C}$.

У *P. tigrinus*, *P. ostreatus*, *O. mucida*, *T. rutilans* содержание белка в мицелии было выше по сравнению с *H. fasciculare*. Опенок серно-желтый отличался достаточно высоким, по сравнению с другими видами, содержанием аскорбиновой кислоты (0,91 мг %) и высокой пероксидазной активностью (более высокое значение пероксидазной активности отмечено у *O. mucida*).

У всех изученных видов получены плодовые тела в культуре. Для *H. fasciculare* при получении плодовых тел наиболее оптимальной была среда из смеси лузги подсолнечника и зерна пшеницы. Через 42-50 дней после инокуляции (после обрастания среды при температуре 22°C в темноте и размещения на свету) появлялись плодовые тела. Плодовые тела формировали гимениальный слой, на котором развивались базидии с базидиоспорами. Возможность получения плодовых тел *H. fasciculare* в культуре позволит более детально изучить различные аспекты углеродного и азотного обмена, на путях которых могут синтезироваться токсичные вещества.

Изучение особенностей ядовитых грибов и грибов не образующих токсины, характер трофики которых сходен, позволит выявить метаболических особенности обеспечивающие синтез токсинов и причины таких отличий.

ОСОБЕННОСТИ ЛЕЧЕБНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ МИКОТОКСИКОЗАХ ЖИВОТНЫХ

Тремасов М. Я., Сергейчев А. И.
Всероссийский научно-исследовательский
ветеринарный институт
Казань

Важную и далеко не решенную проблему для ветеринарных микотоксикологов представляют вопросы лечения микотоксикозов животных.

Это, прежде всего, связано с отсутствием специфических средств профилактики и лечения отравлений животных ядами микроскопических грибов, с другой стороны — со сложностью разработки антитодов.

Первое объясняется тем, что микотоксины — низкомолекулярные соединения и разработка специфических средств защиты от них — практически трудноосуществимая проблема т. к. создание конъюгатов с белком и другими высокомолекулярными носителями весьма сложная, дорогостоящая работа и, как показали наши исследования и данные зарубежных авторов, недостаточно эффективная. Не дали должного эффекта использование сывороток и тканевых препаратов (антигенов), полученных от животных после воздействия «малых» доз микотоксинов и введенных животным с последующей затравкой их токсинами.

Второе объясняется тем, что несмотря на преимущественную избирательность в действии отдельных микотоксинов, например, афлатоксинов и стеригматоцистина на печень, охратоксинов на кровь и нервную систему, треморгенов и патулина на нервную систему, зеараленона на органы воспроизводства и т. д., в целом природа действия микотоксинов неспецифична, особенно это отмечается при поступлении в организм одновременно нескольких микотоксинов — при сочетанных микотоксикозах.

В этой связи у исследователей при лечении микотоксикозов интерес вызывают средства симптоматической терапии; использование сорбентов; веществ, способствующих ускорению деградации и выведению токсинов; препаратов, обладающих антитоксической активностью, повышающих устойчивость организма к воздействию микотоксинов.

Во Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте более 15 лет ведутся исследования по усовершенствованию мероприятий по снижению ущерба сельскохозяйственному производству от микотоксинов. В рамках этой программы нами проводилась оценка различных препаратов, средств для лечения микотоксикозов животных.

Были проведены экспериментальные исследования в условиях лаборатории на лабораторных и сельскохозяйственных животных при затравке их различными дозами Т-2 токсикозах, афлотоксикозах, зеараленон-токсикозах и патулин-токсикозах животных.

Модельные опыты по лечению микотоксикозов проводили на белых мышах, крысах, кроликах. При положительных результатах на лабораторных животных, исследования проводились на свиньях, овцах, телятах, лошадях и птице.

Полученные данные послужили обоснованием для составления плана лечебных мероприятий при микотоксикозах животных.

На первом этапе всех больных и подозреваемых в отравлении животных отделяли от остального поголовья, исключали из рациона пораженные микотоксинами корма, животных ставили на голодную диету. После уточнения диагноза лечение проводили с учетом клинических признаков отравления и механизма действия соответствующего микотоксина.

Вначале животным промывали желудок 3% раствором натрия гидрокарбоната и назначали солевые слабительные: мания и натрия сульфат внутрь: лошадям в дозе 300-500 г, крупному рогатому скоту- 400-800 г, овцам- 50-100 г, свиньям-25-50-г, курам-2-4 г.

Последующее лечение проводили по схеме:

1. Обильное кровопускание с последующим внутривенным вливанием 40% раствора глюкозы. Дозы — от 400 до 1000 мл крупному рогатому скоту и лошадям; 200-500 мл мелкому рогатому скоту и свиньям.

2. Внутривенное введение 10% раствора кальция хлорида из расчета 20-40 мл для крупного рогатого скота, 5-10 мл овцам и свиньям; подкожное введение кофеина бензоата натрия, 2-5 и 1-2 мл соответственно.

3. Пероральное введение белой глины в виде взвеси в трехкратном объеме воды. Дозы — от 50 до 100 г крупному рогатому скоту, 2-10 г овцам и 5-15 г свиньям. Белую глину предварительно в течение 1,5 ч прогревали при температуре 160 °С, затем охлаждали до температуры тела.

4. Пероральное введение димедрола 10-15 мг/кг, кортизона ацетата — 120-130 мг/ кг.

При интоксикации Т-2 токсином у телят эффективным было использование гемодеза, внутривенно 400-800 мл в течение 6-10 сут. При Т-2 и афлатоксикозах положительный лечебный результат получали при энтеральном введении нейрорептика, а также препаратов бензонал и фенобарбитал.

Установлено положительное влияние пробиотика на основе *Bacillus subtilis* иммуномодулятора ксимедона на течение Т-2, афла- и охратоксикоза у овец и телят.

Перспективным, на наш взгляд, является использование лечебных средств путем нанесения их на кожу, используя в качестве растворителя поверхностно-активные вещества, что чрезвычайно важно при лечении сочетанных микотоксикозов (Т-2, афлатоксикозов), т. к. при этих заболеваниях нарушается свертываемость крови и обычные инъекционные способы не приемлемы. Токсикозы часто сопровождаются рвотой, что ограничивает пероральное применение средств.

ВОПРОСЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРМОВ, КОНТАМИНИРОВАННЫХ МИКОТОКСИНАМИ

Тремасов М. Я., Сергейчев А. И., Равилов А. З.

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт
Казань*

В профилактике микотоксикозов животных важным на наш взгляд является выявление зон распространения грибов-продуцентов микотоксинов — микотоксикологический мониторинг, составление прогноза возникновения микотоксикозов животных, создание условий, снижающих возможность развития токсических грибов и образования ими микотоксинов.

При выявлении микотоксинов в кормах предусматривают рациональное их использование.

Корма, содержащие микотоксины, обезвреживают согласно методическим указаниям по санитарно-микологической оценке и улучшению качества кормов (М., 1985). Обезвреживание предусматривает использование высокотемпературной обработки (на агрегатах типа АВМ, СБ, экструдерах, гранулирование, автоклавирование, прокаливание, проваривание и т. д.), ультрафиолетового облучения, использование щелочей (аммиак, натрия гидроксид), серосодержащих соединений, углеаммонийных солей (А. Н. Котик, 1992), окислителей. Из последних нами с положительным результатом при обезвреживании кормов от Т-2 токсина, афлатоксина В₁, стеригматоцистина, зеараленона применяется натрия перекись. Накоплен опыт работы по детоксикации кормов с использованием ферментов (Д. В. Алеев).

Содержание микотоксинов в кормах после обработки обезвреживающими средствами не должно превышать принятые максимально допустимые уровни.

При необходимости в условиях хозяйств проводят фармакологическую профилактику микотоксикозов, которая направлена на повышение устойчивости животных к микотоксинам. Фармакологическая профилактика проводится в хозяйствах, в которых нет полной гарантии кормления животных свободными от микотоксинов кормами, при вынужденном использовании в рационах кормов пониженного качества.

Нами в условиях хозяйств показано положительное влияние на устойчивость животных при Т-2, афла- и зеараланонтоксикозах цеолита «Шатрашанита» из расчета 1% молодняку, 2-3% взрослым животным, 5% — курам, алюмосиликатов из расчета 0,5-1% для сельскохозяйственных животных и 1-5% для птиц от массы сухого корма, бентонита. Введение в рацион животных наряду с цеолитами белкововитаминных добавок и пробиотиков увеличивало сохранность животных к Т-2 и афлатоксикозу.

Определенные сложности для рационального использования кормов представляет одновременное загрязнение их несколькими микотоксинами, когда имеется высокая вероятность в синергическом действии этих ядов на организм. Как показали наши исследования, наличие в корме некоторых

микотоксинов на уровне или незначительно превышающих ПДК вызывало выраженное негативное влияние. Вопросы нормирования при одновременном нахождении нескольких микотоксинов в кормах является в настоящее время не решенной и одновременно перспективной задачей ветеринарной науки.

СЕЛЕКЦИЯ ШТАММОВ *FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES* — ПРОДУЦЕНТОВ Т-2 ТОКСИНА, ЗЕАРАЛЕНОНА И АУРОФУЗАРИНА

Труфанова В. А., Котик А. Н.

Институт птицеводства УААН,

пос. Борки, Змиевский р-н, Харьковская обл., Украина

Виды *Fusarium* секции *sporotrichiella* известны как продуценты опасных для здоровья человека и животных микотоксинов. Т-2 токсин и родственные трихотецены типа А, характеризующиеся выраженной способностью нарушать синтез протеина, являются причиной алиментарной токсической алейки человека; в последнее десятилетие в странах Европы отмечается тенденция к усилению загрязнения зерна Т-2 токсином. К наиболее часто встречающимся загрязнителям зерна относится зеараленон, проявляющий эстрогенную активность. Недавно мы обнаружили, что продуцируемый грибами рода *Fusarium* аурофузарин, который относится к соединениям нафтохинонового ряда, вызывает у кур ухудшение репродуктивных качеств и содержится в розовоокрашенном зерне пшеницы, пораженной видами *Fusarium*. Названные микотоксины находят применение в практике лабораторий контролирующей качество продовольственного и фуражного зерна и зернопродуктов, в процессе изучения их действия на живые организмы и при разработке лечебно-профилактических средств.

С целью получения Т-2 токсина и зеараленона мы использовали штамм *F. sporotrichioides* 5328а, выделенный Квашниной Е. С. в 1954 г. из нескошенного овса в Московской области, а также мутант *2m*, полученный одним из авторов в 1967 г. в результате обработки *N*-нитрозометилмочевинной конидий штамма 5328а. Мутант *2m* в 4-5 раз превосходил по микотоксинсинтезирующей активности исходный штамм 5328а. Штаммы 5328а и *2m* поддерживали на картофельном агаре (пересевы — 1 раз в 6 месяцев) и хранили при 4-10° в холодильнике. В 1986 году сравнили активность обоих продуцентов; оказалось, что по способности вырабатывать Т-2 токсин *2m* в несколько раз превосходил штамм 5328а: в культурах *2m* и 5328а на рисе содержание Т-2 токсина составляло 1330-1600 и 180-310 мг/кг, соответственно. Следовательно, мутант *2m* характеризуется довольно высокой токсинообразующей активностью; это качество сохранилось в течение 19 лет.

В последующем, используя методы селекции и мутагенеза, от *2m* было получено 4 группы мутантных штаммов, различающихся по способности

вырабатывать Т-2 токсин и зеараленон: ++, +-, -+ и —. Наиболее активные штаммы продуцировали Т-2 токсин в количествах до 12 000 мг/кг, зеараленон — до 40 000–50 000 мг/кг и аурофузарин — до 8 000 мг/кг. У некоторых мутантов выявлено существенно новое качество, нехарактерное как для 5328a и 2m так и в целом для *F. sporotrichioides*: вырабатывать Т-2 токсин при 24–28°, к тому же в весьма больших количествах. В лиофильном состоянии продуценты Т-2 токсина и зеараленона сохранили свою активность в течение 14 лет. Необходимо отметить, что все мутанты характеризуются соматической нестабильностью. Образующиеся сегреганты менее способны к токсинообразованию, но, как правило, имеют явное селективное преимущество в сравнении с исходным типом.

МЕТАБОЛИЗМ Т-2 ТОКСИНА НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЭСТЕРАЗАМИ КРОВИ IN VITRO

Труфанов О. В.

*Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина
Харьков, Украина*

Трихотецены — это эпоксиды сесквитерпеноидов, продуцируемые грибами родов *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichodorma* и *Trichothecium*, средой обитания которых зачастую являются зерновые корма животных и пищевые продукты. Т-2 токсин и родственные ему трихотеценовые микотоксины (ТТМТ) являются ингибиторами биосинтеза белка и нуклеиновых кислот в эукариотической клетке, что обуславливает возникновение у человека и животных различных патологических симптомов, таких как отказ от корма, рвота, кровотечения, анемия и иммуносупрессия, некрозы в ротовой полости и дерматиты.

Интерес к этим микотоксинам обусловлен, прежде всего, тем, что загрязнение трихотеценами пищевых продуктов и кормов является проблемой мирового масштаба. Наиболее эффективная стратегия контроля трихотеценовых микотоксинов заключается в предотвращении загрязнения зерна и зернопродуктов токсинообразующими грибами в период роста злаков и на всех этапах переработки зерна. Однако токсинообразующие грибы являются неотъемлемым компонентом агроэкологической системы, поэтому очень важно иметь информацию о биологических путях детоксикации ТТМТ, в том числе и о способах биотрансформации ферментными системами животного организма.

Биотрансформация Т-2 токсина была исследована в опытах на различных животных как *in vivo*, при составлении фармакокинетических моделей, так и *in vitro*, с использованием микросомальных и S-9 фракций печени, почек, селезенки и эпителия кишечника. Была предложена схема путей биотрансформации Т-2 токсина в животном организме, согласно которой Т-2

сначала гидроксيليруется в 3'-гидрокси-Т-2 токсин, затем гидролизуется в 3'-гидрокси-НТ-2 токсин, который также образуется путем гидроксильирования НТ-2 токсина. Более того, Т-2 токсин может гидролизываться с образованием НТ-2 токсина и неосоляниола и далее превращаться в Т-2 тетраол через 4-деацетилнеосоляниол и 15-деацетилнеосоляниол.

Ведущую роль в детоксикации Т-2 токсина в животном организме играют неспецифические карбоксилэстеразы (КФ 3. 1. 1. 1) и система цитохрома Р-450. Эксперименты с ингибиторами неспецифических карбоксилэстераз S-9 фракции печени крыс показали, что именно эти ферменты осуществляют основную реакцию пути биотрансформации Т-2 токсина — гидролиз эфирной связи ацетильной группы у четвертого атома углерода, что приводит к образованию НТ-2 токсина. Поскольку фосфорорганические типы ингибиторов карбоксилэстераз более эффективно ингибируют реакцию гидролиза Т2 токсина, чем эзерин, более вероятно, что гидролитическое деацетилирование Т-2 токсина осуществляется ферментами типа ацетилхолинэстеразы, а не общими неспецифическими эстеразами.

Известно, что в эритроцитах крови содержатся неспецифические карбоксилэстеразы и ацетилхолинэстераза (КФ 3. 1. 1. 7), а в плазме — холинэстераза (КФ 3. 1. 1. 8). Функции холинэстеразы плазмы изучены мало; предполагают, что активность холинэстеразы плазмы крови является защитным приспособлением, так как этот фермент предотвращает накопление ацетилхолина и распространение его по тканям при его попадании в кровяное русло. При патологических состояниях активность холинэстеразы снижается значительно раньше других симптомов.

Фармакокинетические исследования трихотеценовых микотоксинов на собаках и обезьянах показали, что Т-2 токсин очень быстро выводится из крови; через пять минут его содержание в плазме крови собак снижалось на 50%, а у обезьян — на 22%. Высокие показатели величины клиренса ($1,8 \pm 1,4$ л/мин) свидетельствуют о том, что детоксикация Т-2 токсина происходит не только в органах, но и в крови.

Целью нашей работы было определение способности цельной крови и плазмы *in vitro* трансформировать Т-2 токсин и измерение общей эстеразной активности ферментов крови по отношению к Т-2 токсину.

Основной метаболит Т-2 токсина, обнаруживаемый в экскрементах и органах кур — 3'-гидрокси-НТ-2 токсин. В печени в значительных количествах находят 3'-гидрокси-НТ-2 токсин, НТ-2 токсин и Т-2 триол. Также обнаруживаются Т-2 токсин, 15-ацетокси-Т-2 тетраол, 4-ацетокси-Т-2 тетраол и Т-2 тетраол. В целом количество метаболитов Т-2 в органах очень низкое, по сравнению с экскрементами. В сердце и почках метаболиты не обнаруживаются, в легких — лишь следовые количества. В экскрементах, помимо вышеперечисленных метаболитов, также содержатся не метаболизованный Т-2 токсин, 3'-гидрокси-Т-2 токсин, 3-ацетокси-3'-гидрокси-НТ-2 токсин, 8-ацетокси-Т-2 тетраол и не идентифицированный изомер Т-2 тетраола моноацетата. Однако не были найдены неосоляниол, один из метаболитов Т-2 у грызунов и 3'-гидрокси-7-гидрокси-НТ-2 токсин, обнаруживаемый в коровьей моче. Большинство метаболитов, обнаруженных у кур,

аналогичны встречающимся в культурах видов грибов, продуцирующих Т-2 токсин.

Установлено, что ферменты цельной крови и плазмы крови кур, обладающие эстеразной активностью, способны *in vitro* трансформировать Т-2 токсин в менее токсичный метаболит НТ-2 токсин; кроме того, методом ТСХ были обнаружены четыре не идентифицированных метаболита, относящиеся, по-видимому, к 3'-гидрокси-метаболитам. Изученная нами кинетика гидролиза Т-2 токсина имеет сложный характер в связи с низкой специфичностью реакции и возможностью одновременного превращения Т-2 токсина различными путями. Высокое сродство фермента и субстрата (что связано с низкой растворимостью субстрата) и низкая реакционная способность обуславливают явление ингибирования высокой концентрацией субстрата.

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И
ПОЗИЦИОНИРОВАНИЕ ВНУТРИ РОДА AMANITA
НАИБОЛЕЕ ЯДОВИТЫХ ЕГО ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
(A. PHALLOIDES, A. VIROSA, A. VERNA, A. BISPORIGERA)
ПО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДНК, ВКЛЮЧАЮЩЕЙ
ВНУТРЕННИЕ ТРАНСКРИБИРУЕМЫЕ СПЕЙСЕРЫ ITS1,
ITS2 И ГЕН 5,8S-СУБЪЕДИНИЦЫ РИБОСОМ**

*Василенко О. В., Безмельницын Н. В.,
Ртищева А. И.*

*Гематологический научный центр РАМН
Москва, Воронеж*

Род *Amanita* агариковых базидиомицетов является классическим объектом изучения микологов. Он включает в себя ряд видов, содержащих разнообразные яды. Особое место занимают четыре вида, смертельно ядовитые для человека, которые содержат высокотоксичные и устойчивые к температурным и химическим воздействиям циклические полипептиды — фаллин, фаллоидин и аманитин. Это *A. phalloides*, *A. virosa*, *A. verna*, *A. bisporigera*. Первые два из этих видов по-видимому являются причиной сезонных массовых отравлений, получивших печальное распространение в России, особенно в черноземных регионах в последнее десятилетие. Ежегодно отмечаются серьезные отравления и гибель людей и в других частях света. Тем большее удивление вызывает то обстоятельство, что до сих пор нет данных о последовательностях ДНК, полученных в едином ключе для всех видов смертельно ядовитых аманит — данных, которые можно было бы использовать как для установления филогенетических связей между ними и другими аманитами, так и для ПЦР-диагностики, для установления причин отравления. Данная работа восполняет этот пробел.

Были использованы следующие гербарные образцы грибов: *A. virosa* LE 217147, *A. verna* LE 9601, *A. bisporigera* LE202496, *A. phalloides* LE9435 (любезно предоставлены А. Е. Коваленко из гербария БИН им. В. Л. Комарова РАН, СПб) и еще 1 образец *A. phalloides* FVORO-023 из Воронежской области (А. И. Ртищева, Воронеж). Из небольших кусочков образцов была экстрагирована и очищена при помощи «стеклянного молока» геномная ДНК. ПЦР-фрагменты были получены с парами праймеров ITS1 fungal — ITS4 basidio и очищены при помощи «стеклянного молока». Сиквенирование проводили без предварительного клонирования с использованием праймеров ITS1 fungal и ITS4, а в необходимых случаях и с праймерами ITS2 и ITS3. Для филогенетических построений дополнительно из базы данных GenBank/EMBL/DBJ/PBD были скачаны 27 гомологичных последовательностей, относящихся к аманитам Японии. Последовательности были выравнены методом Clustal W, 3' и 5'-концы вручную отредактированы. Затем филогенетическое дерево было построено методом максимальной парсимонии при помощи программы PAUP 4. 0.

Более ранние работы по молекулярной филогении *Amanita* никогда не включали в анализ все 4 наиболее ядовитых вида, ограничиваясь только некоторыми из них.

Четыре рассматриваемых вида объединились в одну кладу сгруппировавшись по парам: *A. virosa* — *A. phalloides* и *A. verna* — *A. bisporigera*. Соответствующая ей сестринская кладка включает *A. citrina*, *A. spissacea*, *A. porphyria*, *A. rubescens*, *A. flavipes*. Интересно, что если «японская» и «российская» *A. virosa* практически идентичны, следовательно, не дистанцированы друг от друга, то бледная поганка обнаружила генетическую гетерогенность области ITS, что видно по значительному расстоянию на дереве между образцами LE9435 и FVORO-023. Фенотипическую гетерогенность *A. phalloides* в форме и окраске плодовых тел отмечают многие, что создает проблемы при экспресс-распознавании этого опаснейшего гриба по внешнему виду фрагментов даже специалистам. По-видимому существуют генетические варианты этого вида. Это следует иметь в виду при разработке и применении методов ДНК-диагностики в токсикологии, а основу для этого дает знание нуклеотидных последовательностей ITS1 и ITS2 для всех основных представителей рода *Amanita*.

THE HALLUCINOGENIC FUNGI: TRADITIONS, IMPORTANCE AND PROBLEMS

Guzman G.

*Instituto de Ecologia
Veracruz, Мексика*

The hallucinogenic fungi, also know as the Mexican sacred mushrooms, or magic, neurotropic, entheogens and psychotropics, among several common names, and «teonanacate» in Indian language, that means the sacred mushrooms, are use

by Mexican Indians time ago. They use them in traditional ceremonies looking to health or to ask God many things. They follow strict traditional rules to prevent mental problems. They only take mushrooms in a controlled dose of no more than 12 fruit bodies, fresh or dried, exclusively during the night, to avoid noises and distractions. They never mix mushrooms with alcohol, medicines or drugs, and every time they eat the mushrooms below the direction of an old wise person of the town. Following these simple rules, they are in good condition for the other day. However, they avoid to travel during a week, because they say that need to rest at home under proper care. It is admirable to talk with old Indians that frequently use hallucinogenic mushrooms, because they do not have any mental or physical problems.

The hallucinogenic mushrooms were discovered to the science in Mexico in 1956 by Wasson and his wife. The Wassons were first studying the traditional use of the poisonous mushroom: *Amanita muscaria* by a Siberian primitive people, that use this mushroom by religious purposes. However, the Wassons stopped their studies in Siberia, because they were suddenly very interested in to know the explanation of some mushroom stone figures from the Maya Culture in Mexico and Guatemala. In this way, they found in Mexico information about the traditional use of some rare mushrooms use by Indians in the southern mountains of the Mexico. After several trips between 1953-1956, they found the hallucinogenic mushrooms and knew their Indian use. However, the Wassons need to established contact with Professor Heim, Director of the National Museum of Natural History in Paris, because he was one of the best mycologist in taxonomy of the mushrooms in the world. When Heim saw the hallucinogenic Mexican fungi, he traveled to Mexico to study those fungi, because these fungi were unknown to the science. After several trips in Mexico by Heim and Wasson, they published in Paris, with the collaboration of several European specialists, a great book on the Mexican hallucinogenic mushrooms, their Indian uses and their taxonomy, cultivation, chemistry, effects and medicinal importance. Heim showed that *Psilocybe* was the main genus of these fungi. At the same time, Singer another upstanding mycologist in the world visited Mexico in 1957 to study these fungi, and together with Smith, they published a taxonomic monograph of the species hallucinogenic of the genus *Psilocybe*, only 18 species. They reported these fungi from Mexico, South America, the U.S.A., England, and Java.

Guzman started his studies in the hallucinogenic mushrooms in 1957, with the help of Singer. He published several articles on the taxonomy, distributions and traditions of these fungi, mainly in *Psilocybe*, between 1958 and 1980. In 1983 they published in the Editorial Cramer from Germany, his book on the genus *Psilocybe* in the world, with more than 140 species, of which more than 80 were hallucinogenic. After that, Guzman continue working in the hallucinogenic *Psilocybe*, and at the present he has around 200 species of *Psilocybe* from all the world, of which around 100 species are hallucinogenic. However he showed two important things: 1. Only in Mexico and New Guinea we know the traditional use of these fungi, although maybe in several Central and South American Indians Cultures they used mushrooms by religious propose. However, this tradition was lost by the Spanish Conquest. The second thing that Guzman shows is that the hallucinogenic

species of *Psilocybe* that grow on all over the world, are more abundant in Mexico, South America and south of Asia, and maybe in Africa, and very rare in the U.S.A., Europe and north of Asia.

Why the hallucinogenic fungi are so important?, or at least, why they took the attention to the science? They produce a strong action on the nervous system, where it seems they destroyed the hormone that control the normal actions of the nervous system. Then the psilocybin, the main chemical active principle that content the hallucinogenic psilocybes, produces the hallucinations. However, by the metabolism the psilocybin is destroyed, and then the hormone of the nervous system is recuperated. In this way, the person that was by effects of the hallucinogenic mushrooms, reaches his normal condition absolutely.

An important problem with the hallucinogenic mushrooms, is the high recreational use that young people made with them without any care. They mixed these mushrooms with alcohol or drugs, with very dangerous results. The use of these mushrooms is so common, because the hallucinogenic fungi are found throughout the continents, and they are very easy to get by culture. In many countries there is a flourishing illegal trade with these fungi. To stop this problem, almost all the countries introduced legislation aimed to preventing the sale and use of these mushrooms, because they are considered as drug, although they are not drugs.

To reduce the recreational use of the hallucinogenic mushrooms, it is necessary that countries launch official public programs related with the dangerous use of these fungi. However, following the Mexican Indian traditions, these fungi are not problem.

To put the problem of the use and abuse of these fungi into perspective, it is necessary to remember Paracelso's principle: «Nothing in poison, only the dose renders a substance to be it», that applying to the hallucinogenic fungi, Guzman changes to: «Nothing is dangerous, except the abuse renders a matter dangerous».