

ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА КОРМОВОЇ ДОБАВКИ ІНСОРБ

*І. Я. Коцюмбас, д-р вет. наук, проф., академік НААН,
О. М. Брезвин, д-р вет. наук,
Г. В. Рудик, канд. вет. наук*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті наведені результати досліджень із вивчення токсичності та безпечності кормової добавки Інсорб. Інсорб – порошок, розроблений для застосування при лікуванні та профілактиці інтоксикацій, викликаних мікотоксинами. У результаті проведених досліджень, а саме: визначення гострої токсичності за одноразового внутрішньошлункового введення, встановлено, що кормова добавка Інсорб, згідно з ГОСТ12.1.007-76, належить до IV класу токсичності. Він добре переноситься тваринами. У період використання його протягом 14 днів встановлено позитивний вплив на морфо-функціональний стан крові щурів. Досліджувані гематологічні показники були у межах фізіологічної норми, що свідчить про відсутність токсичного впливу даної кормової добавки на організм щурів. Отримані результати вказують про доцільність подальшого вивчення і застосування кормової добавки Інсорб з лікувальною та профілактичною метою, за мікотоксикозів тварин.

Ключові слова: ЛАБОРАТОРНІ ЩУРИ, КОРМОВА ДОБАВКА ІНСОРБ, ТОКСИЧНІСТЬ, ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ГЕМАТОЛОГІЧНІ, ІМУНОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ.

Серед агентів, які, в першу чергу, привертають на себе увагу при проведенні контролю якості кормів, рослинної сировини та продуктів тваринного походження, особливе місце займають мікотоксини. Ці вторинні метаболіти життєдіяльності мікроскопічних грибів по впливу на організм визнані найбільш токсичними для тварин і людей. Їх джерелом є харчові продукти, фуражне і товарне зерно, де за сприятливих умов вони можуть накопичуватися та ставати небезпекою масових гострих та хронічних отруєнь.

Всі мікотоксини є термостабільні, що становить потенційну і реальну небезпеку. Вони стійкі і стабільні до дії високих і низьких температур, обробки мінеральними кислотами, лугами та іншими реагентами. Механізм дії мікотоксинів залежить від їх хімічної будови. Більшість з них відноситься до сполук першого класу токсичності, які проявляють дерматонекротичну, мутагенну, тератогенну, ембріотоксичну, канцерогенну та імуносупресивну дії. Важливим також залишається факт накопичення мікотоксинів в організмі тварин у малих дозах, в результаті поїдання корму контамінованого мікотоксинами. Проте кількість мікотоксинів в таких кормах становить нижче МДР. Як наслідок виникає ілюзія їх відсутності і, відповідно, безпеки корму. Однак упродовж декількох днів згодовування таких кормів доза отриманих токсинів досягає критичної і проявляється будь-яким способом, переважно зниженням апетиту, загальним пригніченням, порушенням травлення. У переважній більшості випадків причину цих симптомів шукають в чому завгодно, але не в дії мікотоксинів. З причини токсичної дії мікотоксинів в організмі тварин порушується процеси кровотворення, вражається нервова, серцево-судинна, лімфоїдна, імунна система, пригнічується функціонування печінки, нирок та кишково-шлункового тракту. Мікотоксини можуть забруднювати практично всі види кормів та через продукцію тваринництва потрапляти до організму людини. Сьогодні найбільш ефективним методом дезінтоксикації мікотоксинів у кормах для тварин є застосування сорбентів та кормових добавок виготовлених

на їх основі. На сьогодні відомо, що додавання алюмосилікатів до раціону позитивно впливає на здоров'я та продуктивність тварин, оскільки вони беруть участь в регуляції мінерального обміну та сприяють засвоєнню поживних речовин корму. Останнє відбувається за рахунок обволікаючої дії алюмосилікатів, оскільки поверхнево-активні речовини сприяють всмоктуванню жирних кислот і жиророзчинних продуктів. Слід наголосити, що алюмосилікатні глини активно адсорбують мікотоксини, оскільки молекулярна поверхня цих добавок, після насичення водою, притягує і зв'язує полярні функціональні групи мікотоксинів, що сприяє виведенню їх з кишечника та унеможливорює надходження в кров.

Метою нашої роботи було визначення класу гострої токсичності (АТС) [1, 2, 3] та нешкідливості кормової добавки Інсорб, для ефективного її застосування в подальшому у тваринництві.

Матеріали і методи. Дослід проводили в умовах віварію ДНДКІ на білих щурах 3-4 місячного віку з масою тіла 200-230 г. На першому етапі Було сформовано одну контрольну і три дослідні групи по 5 тварини у кожній. Перед початком досліду тварин витримували у карантині протягом 14 діб. Всі тварини знаходилися в однакових умовах утримання та годівлі. Годівлю щурів проводили повнораціонним гранульованим комбікормом згідно установлених норм. Дослід тривав 7 діб. Перед оральним введенням тварин не годували протягом 12 годин. Суспензію кормової добавки вводили малими дозами (5 мл) з інтервалом 5 годин. Після введення Інсорбу, корм тварини отримали через 3-4 години, при постійному забезпеченні тварин водою. Щурам I (контрольної) групи протягом доби вводили внутрішньошлунково 5 мл дистильованої води; Дослідним групам тварин кормову добавку Інсорб вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда (рис. 1) у вигляді суспензії з 1% крохмалем, у дозі: щури II групи отримували 500 мг/кг м. т., III – 1000 мг/кг м. т. і IV – 5000 мг/кг м. т. Щурам IV групи введення проводили дворазово по 5 мл з інтервалом 5 год.

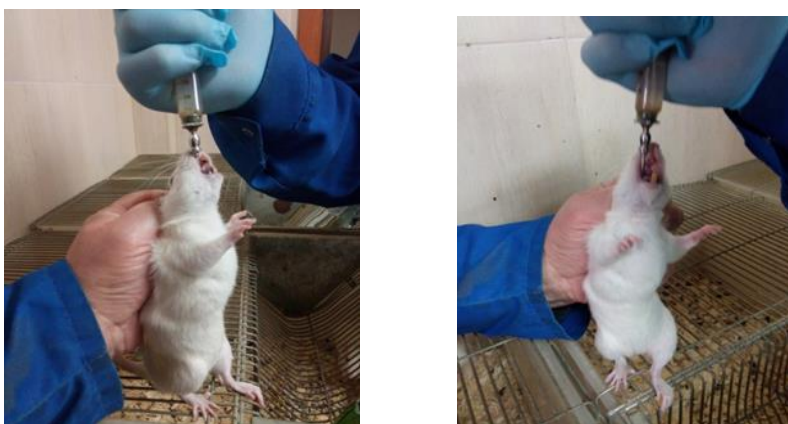


Рис. 1. Введення лабораторним щурам кормової добавки Інсорб

На другому етапі дослідження вивчали вплив кормової добавки Інсорб на лабораторних щурах за довготривалого введення [2, 4]. Дослід проводили в умовах віварію ДНДКІ на білих щурах 2,5-4 місячного віку з масою тіла 180-220 г. Було сформовано контрольну і три дослідних груп тварин по 10 голів у кожній. Перед початком досліду тварин витримували на карантині протягом 14 днів. Всі тварини знаходилися в однакових умовах утримання та годівлі. Дослід тривав 7 діб. Щурам I (контрольної) групи протягом доби вводили внутрішньошлунково 5 мл дистильованої води; Дослідним групам тварин вводили кормову добавку Інсорб внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда у вигляді суспензії, з розрахунку: щури II групи отримували по 5 мл в концентрації 4 г кормової добавки, III – 10 мл – 8 г і IV – 15 мл – 12 г. Введення проводили малими дозами з інтервалом 5 год. Токсичну дію кормової добавки на організм щурів вивчали методом спостереження за поведінкою піддослідних тварин, фіксуючи їх клінічний стан і загибель. В кінці досліду щурів зважували

та забивали шляхом декапітації, під легким ефірним наркозом, відбирали внутрішні органи дотримуючись положення Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментах та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

Матеріалом для гематологічних досліджень слугували відібрані проби крові [1, 2]. При відборі проб крові дотримувалися усіх правил асептики та антисептики. У гепаринізованій крові визначали число еритроцитів, лейкоцитів, лейкоформулу, гематокрит, концентрацію гемоглобіну. Загальний вміст білка в сироватці крові визначали за допомогою рефрактометра РФ-22, білковий спектр сироватки крові – методом електрофорезу на ацетаті целюлози в автоматичному режимі на приладі Hospitex diagnostics, згідно з інструкцією. Статистичне опрацювання результатів експериментальних досліджень проводили за програмою статистичного пакету аналізу даних у Microsoft Excel-97. Для визначення вірогідності відмінностей між середніми величинами використовували t-критерій Стьюдента.

Результати й обговорення. Токсичну дію кормової добавки на організм щурів вивчали методом спостереження за поведінкою піддослідних тварин, фіксуючи їх клінічний стан та загибель (табл. 1).

Таблиця 1

Результати гострого дослідження за внутрішньошлункового введення білим щурам кормової добавки Інсорб

№ п/п	Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин		
			всього	%	середній час загибелі
1	5	500	0	0	0
2	5	1000	0	0	0
3	5	5000	0	0	0
4	10	5000	0	0	0

Для підтвердження класу токсичності щурам вводили кормову добавку Інсорб у дозі 5000 мг/кг м. т. протягом однієї доби. Протягом всього терміну спостереження дослідні тварини були активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість. При введенні суспензії кормової добавки Інсорб білим щурам в дозі 5000 мг/кг клінічних симптомів отруєння, порушень зі сторони дихальної та сечовидільної системи, а також розладів шлунково-кишкового тракту не спостерігали. Неадекватних реакції та загибель тварин протягом дослідження були відсутні. За фізіологічними та клінічними показниками, зокрема, поведінкою, відношенням до корму, води, станом зовнішніх видимих слизових оболонок, а також за функцією шлунково-кишкового тракту, сечовидільної системи дослідні щури не відрізнялися від щурів контрольної групи.

Максимальна введена доза склала 5000 мг/кг маси тіла тварин. В результаті проведених досліджень кормова добавка Інсорб належить до малотоксичних речовин – 4 клас по ГОСТ 12.1.007-76.

Після встановлення параметрів гострої токсичності препарату, надзвичайно важливим і невід’ємним етапом доклінічних досліджень є вивчення впливу кормової добавки Інсорб на організм тварин за довготривалого застосування. Так при застосуванні кормової добавки упродовж 14 діб не було виявлено загибелі тварин дослідних груп. За результатами вивчення впливу кормової добавки Інсорб на лабораторних щурах встановлено, що протягом всього терміну спостереження дослідні тварини були активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість. Отримані результати спостереження протягом дослідного періоду наведені в таблиці 2.

Клінічних ознак порушення зі сторони дихальної та сечовидільної системи, а також розлади шлунково-кишкового тракту були відсутні. Неадекватних реакцій та загибелі тварин не спостерігали. За загально-клінічними показниками, поведінкою, відношенням до корму, води, станом зовнішніх слизових оболонок, а також за функцією шлунково-кишкового тракту, сечовидільної системи дослідні щури не відрізнялися від щурів контрольної групи.

Клінічні спостереження за щурами в період досліду ($M \pm m$, $n=40$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Інсорб		
		I - 5 мл H ₂ O	II - 5 мл, = 4 г	III - 10 мл, = 8 г
Початкова маса тіла, г	121,9 ± 2,7	123,1 ± 3,7	122,3 ± 7,1	120,9 ± 2,4
Маса тіла на кінець досліду, г	122,0 ± 2,7	124,1 ± 1,7	123,4 ± 5,7	119,9 ± 3,3
Температура тіла, °C	37,9 ± 0,1	37,5 ± 0,5	37,3 ± 0,3	37,5 ± 0,4
Частота дихання, рухів/хв.	127 ± 4	123 ± 9	123 ± 7	124 ± 2
Розлади ШКТ	відсутні	відсутні	відсутні	відсутні
Пульс, рухів/хв.	57 ± 4	59 ± 9	58 ± 7	59 ± 2
Неадекватні реакції	відсутні	відсутні	відсутні	відсутні
Загибель тварин	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня

Після проведення патологоанатомічного розтину трупів щурів при візуальному огляді шкірного покриву, слизових оболонок, природніх отворів та макроскопічному обстеженні внутрішніх органів у тварин контрольної та II і III дослідних груп не виявлено ознак інтоксикації або інших проявів патологічних процесів. У тварин IV групи, які отримували 15 мл суспензії (відповідно 12 г Інсорбу) відмічали геморагічне запалення фундальної частини шлунку та 12-палої кишки.

Видимих патологоанатомічних змін з боку серцевого м'яза, легень, нирок та селезінки не виявлено (рис. 2).

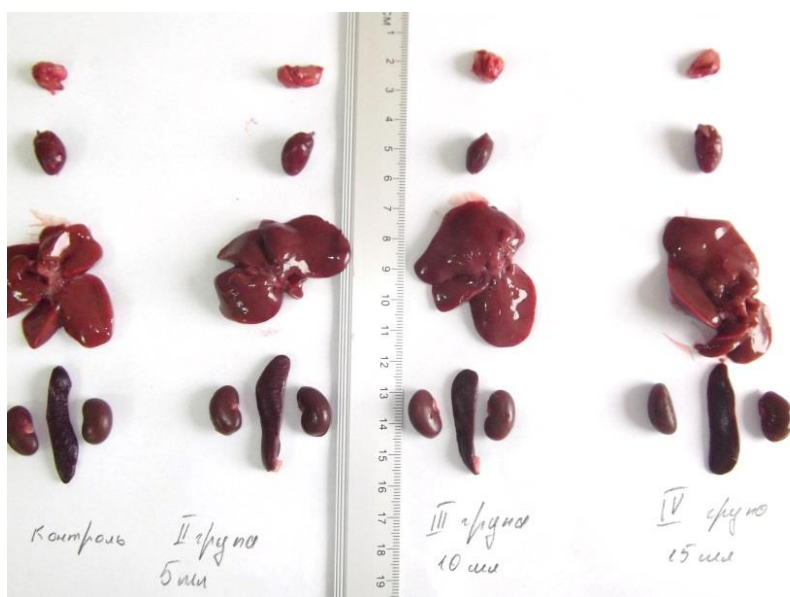


Рис. 2. Щури. 7 доба. Внутрішні органи дослідних щурів

За розміром, кольором, консистенцією, а також розташуванням внутрішніх органів дослідні тварини всіх груп не виходили за межі фізіологічної норми (табл. 3).

Таблиця 3

Коефіцієнти маси внутрішніх органів щурів на 7 добу досліду за умов застосування різних доз Інсорбу ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Показники, %			
	Печінка	Селезінка	Нирки	Серце
Контроль	3,1 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,13	0,3 ± 0,01
II (5 мл=4 г)	3,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,8 ± 0,10	0,4 ± 0,03
III (10 мл=8 г)	3,7 ± 0,4	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,11	0,3 ± 0,01
IV (15 мл=12 г)	3,7 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,11	0,4 ± 0,02

Як видно з табл. 3, з боку коефіцієнтів маси внутрішніх органів щурів дослідних груп змін не зареєстровано.

У порівняльному аспекті проведено дослідження впливу кормової добавки Інсорб на важливі параметри гомеостазу організму щурів – гематологічні показники. Отримані результати досліджуваних гематологічних показників у щурів представлені в табл. 4.

Таблиця 4

Гематологічні показники у щурів на 7 добу досліду за умов застосування Інсорбу ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Показники		
	Еритроцити, Т/л	Лейкоцити, Г/л	Гемоглобін, г/л
Контроль	5,9±0,4	7,7±0,8	117,2±5,6
II (5 мл=4 г)	6,1±0,5	9,2±0,7	128,4±9,9
III (10 мл=8 г)	6,1±0,6	9,9±0,4	120,7±10,2
IV (15 мл=12 г)	5,9±0,1	10,3±1,8	114,9±10,9

Як свідчать результати досліджень представлені в табл. 4 у крові щурів, спостерігається незначне підвищення, але в межах фізіологічної норми, загальної кількості лейкоцитів у всіх дослідних групах II, III та IV, відповідно на 19,4, 28,6 та 33,7 %, у порівнянні до контролю. Лейкоцити відіграють важливу роль в захисних реакціях організму. На нашу думку, незначне підвищення їх загальної кількості у тварин IV групи, які отримували 12 г суспензії Інсорбу вказує на запальні процеси які ми виявляли при розтині трупів тварин, зокрема, геморагічне запалення фундальної частини шлунку та 12-палої кишки.

Отже, введення кормової добавки Інсорбу в дозі 4 та 8 г сприяло стимуляції показників гемопоєзу у щурів II та III груп в порівнянні до контрольної групи. Досліджувані гематологічні показники були у межах фізіологічної норми, що свідчить про відсутність токсичного впливу даної кормової добавки на організм щурів.

Слід зазначити, що застосування Інсорбу у щурів стимулювало позитивний ефект не тільки на морфологічний склад крові, але й на вміст загального білка та його фракцій (табл. 5).

Таблиця 5

Фракційний склад сироватки крові щурів на 7 добу досліду за умов застосування Інсорбу ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	Інсорб		
		I	II – 4	III – 8
Загальний білок, г/л	77,0±0,6	91,6±4,1	73,3±4,3	71,1±0,4
Альбумін, %	34,6±4,5	40,6±3,9	46,1±12,4*	47,2±5,7*
α_1 -глобуліни, %	11,0±1,2	11,9±1,2	7,7±2,5	7,9±0,8
α_2 -глобуліни, %	14,5±8,9	12,2±1,6	7,9±4,4	5,1±1,1
γ -глобуліни, %	19,2±4,5	22,8±4,8	17,3±4,1	20,2±0,9

Примітка: * — $P < 0,05$ порівняно з контролем

При аналізі протеїнограми (табл. 5) все вказувало на стимуляцію обміну білка в організмі щурів за рахунок збільшення вмісту загального білка у щурів II групи на 18,9 %. Це важливий факт постійності внутрішнього середовища організму, визначаючий рівень обмінних процесів. Важливою складовою сироваткового білка, що характеризує реактивність та резистентність організму, є глобуліни. У процесі проведених досліджень достовірно підвищився вміст глобулінових фракцій білка у сироватці крові щурів II групи в порівнянні з контролем, що свідчить про підсилення неспецифічної резистентності організму. При цьому спостерігали тенденцію до підвищення альбумінів у щурів II групи на 17,3 %, та достовірне зростання у щурів III та IV груп, відповідно на 33,2 та 36,4 %, у порівнянні з контролем, що, на нашу думку, вказує на більш інтенсивне використання білків цієї фракції, як пластичного матеріалу.

ВИСНОВКИ

1. Кормова добавка Інсорб, згідно з ГОСТ12.1.007-76, належить до IV класу токсичності, не викликає подразнюючої та дермонекротичної дії при нанесенні на шкіру, а також не викликає подразнюючої дії на слизовій оболонці ока кроля.

2. Введення кормової добавки Інсорб для щурів в дозі 4 та 8 г сприяло стимуляції показників гемопоезу, який обумовлений високою біологічною дією елементів, що входять до її складу а саме: Магнію, Кобальту і Цинку, які сприятливо впливають на підсилення дихальної функції, покращення надходження кисню і більш інтенсивним окиснювально-відновлюючим процесам, які відбуваються в організмі щурів, як наслідок – активація обмінних процесів та енергії.

3. Встановлено, що введення 12 г Інсорбу внутрішньошлунково щурам викликає запальні явища на слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту, а саме: на 7 добу досліду спостерігали геморагічне запалення фундальної частини шлунка та 12-палої кишки.

Перспективи досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення сорбційних властивостей кормової добавки Інсорб.

TOXICOLOGICAL ESTIMATION OF FEED ADDITION OF INSORB

I. Ya. Kotsyumbas, O. M. Brezvyn, H. V. Rudyk

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

S U M M A R Y

In the article the brought results over of researches from the study of toxicness and unconcern of feed addition of Insorb. Insorb – the powder, worked out for application at treatment and prophylaxis of the intoxications caused by mycotoxins. As a result of undertaken studies, namely: determination of sharp toxicness at non-permanent intra-gastric introduction, it is set that feed addition of Insorb, according to GOST 12.1.007-76, it belong to IV of toxicness class. He is well carried by animals. In a period the use of him during a 14 days positive influence is set on the morpho-functional state of blood of rats. The investigated hematological indexes were within the limits of physiology norm that testifies to absence of toxic influence of this feed addition on the organism of rats. The got results specify about expedience of further study and application of feed addition of Insorb in curative and prophylactic aims, at mycotoxicosis of animals.

Keywords: LABORATORY RATS, FEED ADDITION OF INSORB, TOXICNESS, SHARP TOXICNESS, HEMATOLOGICAL, IMMUNOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDEXES.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИНСОРБ

И. Я. Коцюмбас, О. М. Брезвин, Г. В. Рудык

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных
препаратов и кормовых добавок
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлены результаты исследований из изучения токсичности и безопасности кормовой добавки Инсорб. Инсорб – порошок, разработанный для применения

при лечении и профилактике интоксикаций вызванных микотоксинами. В результате проведенных исследований, а именно определение острой токсичности при однократном внутрижелудочном введении, установлено, что кормовая добавка Инсорб согласно ГОСТ12.1.007-76 принадлежит к IV классу токсичности. Он хорошо переносится животными.

В период использования его в течение 14 суток установлено позитивное влияние на морфо-функциональное состояние крови крыс. Исследуемые гематологические показатели были в пределах физиологической нормы, которая свидетельствует об отсутствии токсичного влияния данной кормовой добавки на организм крыс. Полученные результаты указывают о целесообразности последующего изучения и применения кормовой добавки Инсорб с лечебной и профилактической целью при микотоксикозах животных.

Ключевые слова: ЛАБОРАТОРНЫЕ КРЫСЫ, КОРМОВАЯ ДОБАВКА ИНСОРБ, ТОКСИЧНОСТЬ, ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ, ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. — Введ. 01.01.77. — Проверен 01.10.81; Изменен №1; Переиздан 01.12.81. — М.: Изд-во стандартов, 1982. — С. 6.

2. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / Коцюмбас І. Я., Малик О. Г., Патерега І. П. та ін., за ред. Коцюмбаса І. Я. — Львів: Тріада плюс, 2006. — 365 с.

3. Оцінка безпечності кормових добавок, загальні підходи: методичні рекомендації / І. Я. Коцюмбас, Г. П. Ривак, С. О. Шаповалов та інші — Львів, 2011. — 21 с.

4. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин: Методичні рекомендації / М. В. Косенко, О. Г. Малик, І. Я. Коцюмбас та ін. — К., 1997. — 34 с.

Рецензент — І. П. Патерега, к. вет. н., с. н. с., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.