DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.96.6.038

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ АБИОТОНИК

Научная статья

Шантыз А.Х.¹, Дельцов А. А.², Марченко Е.Ю.^{3,*}, Шантыз А.Ю.⁴

¹ORCID: 0000-0001-6514-3510; ³ORCID: 0000-0002-1529-9039:

^{1, 3, 4} Кубанский государственный аграрный университет, Краснодар, Россия;

² Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

*Корреспондирующий автор (superbananahead[at]mail.ru)

Аннотация

В данной статье приведены результаты исследования параметров токсичности биологически активной добавки для ветеринарного применения абиотоник на белых беспородных крысах, белых нелинейных мышах и кроликах породы «советская шиншилла». Результаты исследований показали, что кормовая добавка абиотоник относится к 4-му классу опасности в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007-76 — вещества малоопасные, а также не обладает токсичностью при нанесении на слизистые оболочки и кожу и не обладает аллергенными и кожно-резорбтивными свойствами.

Ключевые слова: токсикологическое исследование, лабораторные животные, кормовая добавка, летальная доза.

EVALUATION OF THE TOXICITY OF THE BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE OF ABIOTONIC

Research article

Shantiz A. Kh.¹, Del'cov A. A.², Marchenko E. Yu.^{3*}, Shantiz A. Y.⁴

¹ORCID: 0000-0001-6514-3510; ³ORCID: 0000-0002-1529-9039;

^{1, 3, 4} Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia;

²Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MVA named after K.I. Skryabin, Moscow, Russia

*Corresponding author (superbananahead[at]mail.ru)

Abstract

This article presents the results of a study of the toxicity parameters of biologically active additive for veterinary use a Abiotonic in white laboratory rats and white laboratory mice and rabbits of breed «Soviet chinchilla». The results of our studies showed that the feed additive belongs to the 4th hazard class in accordance with the standards of GOST 12.1.007-76 - low-hazard substances, and also doesn't have toxicity when applied to mucous membranes and skin and doesn't have allergenic and skin-resorptive properties.

Keywords: toxicological research, laboratory animals, letal dose, feed additive.

Введение

Одной из важнейших задач, стоящих перед специалистами в области животноводства, является сохранение высокого уровня продуктивности у сельскохозяйственных животных [9].

Несбалансированность рациона высокопродуктивных животных по комплексу питательных веществ в настоящее время является сдерживающим фактором развития животноводства [4].

Максимальный потенциал организма продуктивных животных может быть достигнут только при наличии полноценного кормления, сбалансированного не только по белкам, жирам и углеводам, но и по микроэлементам, макроэлементам, витаминам и аминокислотам. Основные рационы сельскохозяйственных животных – растительного происхождения, следовательно, они не могут обеспечить высокопродуктивных животных в полноценном белке, в том числе и в незаменимых аминокислотах [2], [3].

Недостаточное поступление белковых компонентов в организм приводит к различным патологиям. В таких случаях, для восстановления нарушенных функций, будет необходимо обеспечение организма всеми необходимыми питательными веществами [1], [10].

Чтобы избежать проблем с падением продуктивности у сельскохозяйственных животных, в нашей стране расширяется производство синтетических аминокислот, которые получают путем гидролиза и применяют в качестве добавок к рационам у высокопродуктивных животных [3].

К группе таких препаратов и кормовых добавок относится биологически активная добавка абиотоник производитель ООО фирма A-БИО (г. Москва, $P\Phi$).

В связи с этим, было решено провести точную токсикологическую оценку новой кормовой добавки абиотоник для исследования возможных неблагополучных последствий для организма животных.

Методы и материалы исследования

Объект исследования – кормовая добавка абиотоник, которая представляет собой раствор, в основе – гидролизат соевого белка средней степени расщепления с комплексом витаминов и микроэлементов.

В токсикологических экспериментах в общей сложности участвовало 80 белых лабораторных мышей, 120 белых беспородных крыс и 10 кроликов породы «Советская шиншилла».

Все исследования проводили согласно официальным методическим указаниям и регламентирующим документам [6], [8].

Для определения параметров острой токсичности, в экспериментах было задействовано 60 белых лабораторных мышей с массой тела 18-20 г и 60 белых беспородных крыс, массой тела 180-200 г.

Перед началом опыта, животные выдерживали голодную диету (12 часов для крыс и 6 часов для мышей), после чего проводилось взвешивание, и методом «случайных чисел», используя критерий массы тела (отклонения от среднего значения массы тела не превышали 10 %), подопытные животные были распределены на шесть равных групп в каждой 10 голов. Из них 5 групп опытных групп, им задавалась исследуемая кормовая добавка, 6-я - контрольная, которой вводили физиологический раствор.

Кормовую добавку вводили внутрижелудочно, с помощью металлических питательных трубок с шарообразным наконечником, утром, натощак. Было подобрано пять различных дозировок как для мышей, так и для крыс. При превышении максимально допустимого разового введения (1 мл для мышей и 5 мл для крыс), введение осуществляли повторно в течение суток с интервалом 4-6 часов.

В течении двух недель велось регулярное наблюдение за общим состоянием подопытных животных. Регистрировали общее клиническое состояние, следили за поведенческой реакцией, оценивали реакцию на раздражители, следили за потреблением воды и корма.

По окончанию эксперимента, для проведения патологоанатомического исследования, все животные были подвергнуты эвтаназии.

Расчёт параметров острой токсичности кормовой добавки проводили по учету смертности животных от вводимых доз изучаемого препарата (метод Литчфилда и Уилкоксона). Класс опасности препарата определяли согласно ГОСТ 12.1.007-76 [14].

Изучение раздражающих свойств кормовой добавки проводили методом конъюнктивальной пробы на 10 кроликах породы «Советская шиншилла». Кормовую добавку Абиотоник закапывали в конъюнктивальный мешок левого глаза с помощью травмобезопасной офтальмологической пипетки в дозе 2 капли. Правый глаз служил контролем, в него, по аналогии, тем же подопытным животным закапывали изотонический раствор натрия хлорида.

Состояние слизистых оболочек глаз фиксировали в течение 2-х суток. Результаты наблюдений фиксировали через 5 минут, 30 минут, 1, 3, 6, 24 и 48 часов. Оценивали степень гиперемии, отечность, состояние сосудов склеры и роговицы, ширину зрачка, состояние век.

Изучение местно-раздражающего действия кормовой добавки абиотоник проводили на 2-х группах белых беспородных крыс массой тела 180-200 г, по 10 животных в каждой (1 – опыт, 2 – контроль).

Выстригали волосяной покров и обезжиривали кожу, после чего на подготовленный участок площадью, равной 6 см² подопытным животным наносили кормовую добавку абиотоник, а контрольным аналогичным способом дистиллированную воду. Наличие раздражающего действия определяли по возникновению эритемы или отека, утолщения кожной складки, расчесов на месте нанесения, трещин кожи, корок и геморрагий. По реакции животных, пальпацией определяли болезненность участка аппликаций.

Кожно-резорбтивное действие кормовой добавки абиотоник проводили «пробирочным методом» по М.Н. Аргунову. Было сформировано по 2 группы белых лабораторных мышей массой тела 18-20 г, и белых беспородных крыс массой тела 180-200 г, по 10 голов в каждой. Хвосты подопытных животных опускали в пробирку кормовой добавкой для опытных групп и с дистиллированной водой для контрольных на 2/3 длины.

Реакцию фиксировали через 4 часа, после погружения хвоста в изучаемую добавку. Отмечали проявление местных изменений на коже хвоста в форме гиперемии, отека или некроза; уровень проявления интоксикации; изменение массы тела; число летальных исходов.

Изучение аллергизирующих свойств изучаемой кормовой добавки проводили с помощью метода накожных аппликаций. В опыте было задействовано 2 группы белых беспородных крыс весом от 180 до 200 г, по 10 голов в каждой. Первая служила опытом, вторая контролем. Кормовая добавка абиотоник наносилась многократными аппликациями на выстриженную кожу боковых поверхностей туловища животных площадью 6см² в соотношении 0,1 мл/см² ежедневно, в течение 20 дней. Оценку аллергенных свойств производили по развитию дерматита, отека кожи, гиперемии, эритемы в месте аппликации. Реакцию кожи учитывали по шкале оценки проб.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования острой токсичности кормовой добавки абиотоник на лабораторных животных представлены в таблице 1.

Группа	Вид животных	Количество животных	Объем введения, мл	Пало/Выжило
1	мыши	10	0,50	0/10
2	мыши	10	0,75	0/10
3	мыши	10	1,00	0/10
4	мыши	10	1,25	0/10
5	мыши	10	1,50	0/10
Контроль	мыши	10	1,50	0/10
1	крысы	10	5,0	0/10
2	крысы	10	7,5	0/10
3	крысы	10	10,0	0/10
4	крысы	10	12,5	0/10
5	крысы	10	15,0	0/10
Контроль	крысы	10	15,0	0/10

Тяблиня 1 — Результаты исследования острой токсицности кормовой добавки абиотони

Полученные нами данные демонстрируют, что при введении кормовой добавки абиотоник, у данных видов лабораторных животных отсутствуют видимые признаки токсикоза. После введения указанной добавки было отмечено кратковременное угнетение мышей и крыс всех групп в течение 1-3х часов. У животных наблюдалась вялость и снижение активности, что связано со стрессом от насильственного введения больших доз изучаемого препарата. Удовлетворительным сохранялось общее состояние животных; реакция на внешние раздражители была адекватной; потребление воды и корма в пределах возрастных физиологических норм; акт дефекации и мочеиспускания без видимых изменений, характерных для данных видов животных; слизистые оболочки бледно-розовые; кожа эластичная, шерстный покров гладкий и блестящий. На протяжении всего эксперимента летальных случаев не зарегистрировано.

В связи с полученными данными, посчитать величины летальных доз ЛД $_{50}$ и ЛД $_{100}$, не представлось возможным. Максимально введенные дозировки для мышей и крыс соответствуют 375 000 Ед/кг витамина A и 15 000 мг/кг гидролизата растительного белка.

Согласно классификации, указанной в отраслевом стандарте [14], по степени воздействия на организм кормовую добавку абиотоник следует отнести к веществам малоопасным (4-й класс опасности).

При проведении патологоанатомического вскрытия явных изменений в строении органов выявлено не было. Массовые коэффициенты органов животных опытных групп не отличался от значений, полученных у контрольных групп, как у лабораторных мышей, так и у крыс. Макроскопическая характеристика органов соответствовала здоровому организму.

Раздражающие свойства кормовой добавки абиотоник при нанесении на слизистые оболочки изучали методом конъюнктивальных проб на кроликах. Анализ зафиксированных реакций проведения конъюнктивальной пробы не выявил отклонений в клиническом состоянии животных. В течение первых 2-5 минут наблюдалось учащенное моргание, которое по истечении указанного времени прошло самопроизвольно. Температура тела, частота пульса и дыхания оставались в пределах физиологической нормы. Изменений кровенаполнения конъюнктивы и состояния роговицы и век, наличия лакримации и выделений также не было отмечено. В связи с чем можно утверждать, что кормовая добавка не оказывает токсического воздействия на слизистые оболочки.

При изучении воздействия кормовой добавки на кожные покровы установлено, что абиотоник не выявил изменений кожи, изменений толщины кожной складки. Гиперемия сосудов и болезненность при пальпации не наблюдались, отечность, трещины, корки и геморрагии отсутствовали. Симптомы интоксикации не наблюдались, также не были зафиксированы летальные исходы при нанесении препарата на кожные покровы каждый день на протяжении 10 суток.

Результаты исследований аллергенных свойств кормовой добавки абиотоник представлены в таблице 2.

Группа	Срок наблюдения, сутки	Симптомы		
		гиперемия	отек кожи	десквамация
Опыт	10 сутки	0/10	0/10	0/10
	14 сутки	0/10	0/10	0/10
	21 сутки	0/10	0/10	0/10
Контроль	10 сутки	0/10	0/10	0/10
	14 сутки	0/10	0/10	0/10
	21 сутки	0/10	0/10	0/10

Таблица 2 – Аллергенные свойства кормовой добавки абиотоник

На протяжении всего опыта, у животных опытной группы, не наблюдались явления гиперемии в месте сенсибилизации, отека кожи, десквамации эпителия. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии аллергенных свойств кормовой добавки абиотоник.

Заключение

Исходя из результатов проведенных экспериментов, можно сделать следующие выводы.

Величина LD_{50} кормовой добавки абиотоник для белых мышей и крыс составляет более 5000мг/кг (375 000 Ед/кг вит. А и 15~000 мг/кг гидролизата для белых крыс и мышей). Следовательно, согласно ГОСТ 12.1.007- 76~[6], кормовая добавка абиотоник относится к 4-му классу опасности — малоопасные вещества.

Кормовая добавка абиотоник не обладает токсичностью при нанесении на слизистые оболочки и кожные покровы; не обладает аллергенными и кожно-резорбтивными свойствами.

Конфликт интересов

Conflict of Interest

Не указан.

None declared.

Список литературы / References

- 1. Антипов В. А. К вопросу применения белковых гидролизатов в ветеринарии / В. А. Антипов, М. П. Семененко, О. Н. Тюпенькова // Материалы II Сибирского ветеринарного конгресса 25-26 февраля 2010 г. «Актуальные вопросы ветеринарной медицины». Новосибирск, 2010. С. 216.
 - 2. Антонов М. Масло и жмых собственного производства / М. Антонов // Комбикорма. 2009. № 8. С. 35-36.

- 3. Макарцев Н. Г. Кормление сельскохозяйственных животных / Н. Г. Макарцев. Калуга: ГУП «Облиздат», 1999. 645 с.
- 4. Маликова М. Г. Эффективность скармливания нового пробиотического препарата Вотоспорин-Ж в рационах телят молочного периода / М. Г. Маликова и др. // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. -2012. № 11. -С. 10-15.
- 5. Мирошниченко П. В. Эффективность нового препарата при экспериментальном микотоксикозе на лабораторных животных / П. В. Мирошниченко, А. Н. Трошин, Е. В. Панфилкина и др. // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2016. № 3 (19). С. 105-109.
- 6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. М. ОАО Издательство «Медицина», 2005 832 с.
- 7. Савинков А. В. Опыт использования природных минеральных соединений при нарушении обмена веществ у крупного рогатого скота / А. В. Савинков, М. П. Семененко, А. Г. Кощаев / Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016. № 124. С. 1065-1084.
- 8. Смирнов, А. М. Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных: монография / А. М. Смирнов, В. И. Дорожкин. М.: Россельхозакадемия, 2008. 18-22 с.
- 9. Табаков Н. А. Использование плющеного ячменя в рационах дойных коров / Н. А. Табаков, М. А. Юдахина // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. -2012. № 1. -С. 27-32.
- 10. Тюпенькова О. Н. Фармако-токсикологическое обоснование применения препарата абиопептид : дис ... канд. вет. наук: 06.02.03 : защищена 22.02.2012 / Тюпенькова Оксана Николаевна М., –2011. 137 с.
- 11. Хайруллин Д. Д. Токсикологическая оценка углеводно-витаминно-минерального концентрата «Лизунец Солевит» (Лакто Элита) на белых крысах / Д. Д. Хайруллин, Ш. К. Шакиров // Международный вестник ветеринарии. -2019. -№1. C. 72-76.
- 12. Хайруллин Д. Д. Токсикологическая оценка углеводно-витаминно-минерального концентрата "Лизунец Солевит" (Л-2) / Д. Д. Хайруллин, Ш. К. Шакиров, Ю. В. Ларина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2019. Том 238 (2). С. 220-224.
- 13. Шантыз А. Х. Оценка острой токсичности препарата Гидропептон-плюс / А. Х. Шантыз, А. А. Дельцов // Актуальные проблемы современной ветеринарной науки и практики: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института. 2016. С. 137-140.
- 14. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Введ. 1977-01-01. М.: Стандартинформ, 2007 7с.

Список литературы на английском языке/ References in English

- 1. Antipov V. A. K voprosu primenenija belkovyh gidrolizatov v veterinarii [On the use of protein hydrolysates in veterinary medicine] / V. A. Antipov, M. P. Semenenko, O. N. Tjupen'kova // Materialy II Sibirskogo veterinarnogo kongressa 25-26 fevralja 2010 g. «Aktual'nye voprosy veterinarnoj mediciny» [Materials of the II Siberian Veterinary Congress February 25-26, 2010 "Actual issues of veterinary medicine"] Novosibirsk, 2010. 216 p. [in Russian]
- 2. Antonov M. Maslo i zhmyh sobstvennogo proizvodstva [Oil and oilcake of own production] / M. Antonov // Kombikorma [Compound feed]. 2009. № 8. P. 35-36. [in Russian]
- 3. Makarcev N. G. Kormlenie sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh [Feeding farm animals] / N. G. Makarcev Kaluga: GUP «Oblizdat», 1999. 645 p. [in Russian]
- 4. Malikova M. G. Jeffektivnost' skarmlivanija novogo probioticheskogo preparata Votosporin-Zh v racionah teljat molochnogo perioda [The feeding efficiency of the new probiotic preparation Votosporin-Zh in the diets of dairy calves] / M. G. Malikova and others // Kormlenie sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh i kormoproizvodstvo [Farm animal feeding and feed production]. -2012. № 11. -P. 10-15. [in Russian]
- 5. Miroshnichenko P. V. Jeffektivnost' novogo preparata pri jeksperimental'nom mikotoksikoze na laboratornyh zhivotnyh [The effectiveness of the new drug in experimental mycotoxicosis in laboratory animals] / P. V. Miroshnichenko, A. N. Troshin, E. V. Panfilkina and others. // Rossijskij zhurnal «Problemy veterinarnoj sanitarii, gigieny i jekologii» [Russian journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"]. − 2016. − № 3 (19). − P. 105-109. [in Russian]
- 6. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskih veshhestv [Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances] / edited by R.U. Habriev. M. OAO Izdatel'stvo «Medicina», 2005 832 p. [in Russian]
- 7. Savinkov A. V. Opyt ispol'zovanija prirodnyh mineral'nyh soedinenij pri narushenii obmena veshhestv u krupnogo rogatogo skota [The experience of using natural mineral compounds in metabolic disorders in cattle] / A. V. Savinkov, M. P. Semenenko, A. G. Koshhaev / Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [polythematic Internet electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University]. − 2016. − № 124. − P. 1065-1084. [in Russian]
- 8. Smirnov, A. M. Nauchno-metodologicheskie aspekty issledovanija toksicheskih svojstv farmakologicheskih lekarstvennyh sredstv dlja zhivotnyh: monografija [Scientific and methodological aspects of the study of the toxic properties of pharmacological drugs for animals: monograph] / A. M. Smirnov, V. I. Dorozhkin. M.: Rossel'hozakademija, 2008. 18-22 p. [in Russian]
- 9. Tabakov N. A. Ispol'zovanie pljushhenogo jachmenja v racionah dojnyh korov [The use of flattened barley in the diets of dairy cows] / N. A. Tabakov, M. A. Judahina // Kormlenie sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh i kormoproizvodstvo [Farm animal feeding and feed production]. -2012. № 1. -P. 27-32. [in Russian]

- 10. Tjupen'kova O.N. Farmako-toksikologicheskoe obosnovanie primenenija preparata abiopeptid [Pharmaco-toxicological rationale for the use of the drug abiopeptide]: dis ... PhD in veterinary: 06.02.03: defense of the thesis 22.02.2012 / Tjupen'kova Oksana Nikolaevna M., –2011 137p. [in Russian]
- 11. Hajrullin D. D. Toksikologicheskaja ocenka uglevodno-vitaminno-mineral'nogo koncentrata «Lizunec Solevit» (Lakto Jelita) na belyh krysah [Toxicological evaluation of carbohydrate-vitamin-mineral concentrate "Lysun Solevit" (Lacto Elite) on white rats] / D. D. Hajrullin, Sh. K. Shakirov // Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii [International Journal of Veterinary Medicine]. − 2019. − №1. − P. 72-76. [in Russian]
- 12. Hajrullin D. D. Toksikologicheskaja ocenka uglevodno-vitaminno-mineral'nogo koncentrata "Lizunec Solevit" (L-2) [Toxicological Assessment of carbohydrate-vitamin-mineral concentrate "Lysun Solevit" (L-2)] / D. D. Hajrullin, Sh. K. Shakirov, Ju. V. Larina // Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj mediciny im. N.Je. Baumana [Scientific notes of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman]. 2019. Vol. 238 (2). P. 220-224. [in Russian]
- 13. Shantyz A. H. Ocenka ostroj toksichnosti preparata Gidropepton-pljus [Assessment of acute toxicity of the drug Hydropepton-plus] / A. H. Shantyz, A. A. Del'cov // Aktual'nye problemy sovremennoj veterinarnoj nauki i praktiki: materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii, posvjashhennoj 70-letiju Krasnodarskogo nauchno-issledovatel'skogo veterinarnogo instituta [Actual problems of modern veterinary science and practice: materials of the International scientific-practical conference dedicated to the 70th anniversary of the Krasnodar Scientific Research Veterinary Institute]. 2016. P. 137-140. [in Russian]
- 14. GOST 12.1.007-76 Sistema standartov bezopasnosti truda (SSBT). Vrednye veshhestva. Klassifikacija i obshhie trebovanija bezopasnosti [Occupational safety standards system (SSBT). Harmful substances. Classification and general safety requirements]. Vved. 1977-01-01. M 2007 7p. [in Russian]