

УДК 619:615.9:606:62:639.3:639.212

**ВИВЧЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ ТА ТОКСИЧНОСТІ  
ПРЕПАРАТІВ «АНАЛЬЦИМ-SI» ТА «СПОРО-ЛЕКС».****Скрипка М. В.***Одеський державний аграрний університет,  
м. Одеса, Україна, e-mail: marina.skripka.70@ukr.net***Коваленко В. Л.***Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів,  
м. Київ, Україна, e-mail: kovalenkodoktor@gmail.com***Мачуський О. В.***Українська лабораторія якості та безпеки продукції АПК Національного університету  
біоресурсів та природокористування України, Київ, Україна, e-mail: dr.machuskyu@yahoo.com***Мачуська В. А.***Національний науковий центр «Інститут бджільництва ім. П. І. Прокоповича»,  
м. Київ, Україна, e-mail: k.victoriya2012@gmail.com***Аль-Бкур Тарек Яхйя***Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава, Україна, e-mail: vetbio@i.ua*

Наведена інформація щодо дослідження ветеринарних препаратів «Анальцим-Si» та «Споро-лекс» на нешкідливість та токсичність (гостра і хронічна). У лабораторних дослідженнях визначено відсутність загибелі білих щурів і мишей у гострому токсикологічному експерименті при одноразовому внутрішньошлунковому введенні монтморилонітової породи — діючої речовини препаратів. Тому, за ступенем токсичності препарати можна віднести до речовин малонебезпечних, що володіють слабо вираженими кумулятивними властивостями. За визначення хронічної токсичності встановлено, що значення біохімічних показників крові поросят, як контрольної, так і дослідних груп, в динаміці експерименту були в межах фізіологічної норми та вірогідно не відрізнялися між собою.

**Ключові слова:** «Анальцим-Si», «Споро-лекс», пробіотик, нешкідливість, токсичність, лабораторні тварини, поросята.

Пробіотичні мікроорганізми — це «найкращі» представники нормофлори людей і тварин, отримані шляхом селекції із індигенної мікрофлори певного організму. Даний факт обумовлює одне із перших і головних правил конструювання та застосування пробіотиків — пробіотик, що використовується має складатися із мікроорганізмів, що є облігатними для даного макроорганізму. Тобто, в залежності від виду макроорганізму (для кого призначений пробіотик) варіюється і композиція мікроорганізмів, що має входити до пробіотичного препарату [1, 2, 4].

Нині, в залежності від виду тварин, найбільшого поширення в якості пробіотичних мають штами лактобактерій і біфідобактерій. Препарати, створені на основі цих мікроорганізмів, володіють благотворним впливом на облігатную мікрофлору, знижують рН, проявляють антагонізм щодо патогенної мікрофлори, покращують конверсію корму тощо [2, 5].

Їх застосування, враховуючи розвиток концепції тваринництва без антибіотиків, цілком виправдано. Але для отримання ефекту, від даного виду препаратів, необхідним є дотримання цілого ряду умов: починаючи від штамів, що використовуються під час конструювання пробіотику; дослідження нешкідливості на організм тварин; закінчуючи належним ветеринарно-санітарним станом приміщень, де утримуються тварини [1, 3, 4].

**Метою** нашої роботи провести дослідження ветеринарних препаратів «Анальцим-Si» та «Споро-лекс» на предмет нешкідливості та токсичності (гостра і хронічна).

**Матеріали та методи.** Препарат «Анальцим-Si» являє собою монтморилонітову породу Володимирецького містородовища. Фракція породи складає від 0,01 мм до 5 мм. Пробіотик

«Споро-лекс» — це суміш пробіотичних культур *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3 на природному стандартизованому сорбенті (монтморилонітовій породі Володимирецького містородовища). 1 гр продукту містить: *Bacillus licheniformis* VK-25 не менше ніж  $10^6$  КУО, *Bacillus subtilis* МК-3 не менше ніж  $10^6$  КУО, природний сорбент (монтморилонітова порода) — до 1 гр.

Вивчення нешкідливості та токсичності препаратів «Анальцим-Si» і «Споро-лекс» проводили в лабораторних та польових умовах. Враховуючи, що до складу обох препаратів входить монтморилонітова порода Володимирецького містородовища, дослідженню піддавалася саме сорбційна складова, при цьому нешкідливість пробіотичної мікрофлори було показано під час депонування виробничих штамів *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3 в Національному центрі штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ, м. Київ)

У лабораторних умовах визначали гостру та хронічну токсичності, а також кумулятивні властивості. Імунологічні, біохімічні та гематологічні дослідження периферичної крові мишей та щурів досліджували згідно загально прийнятих методів [5, 6].

Оцінювання функціонального стану організму поросят впродовж 90-добового задавання добавки породи з кормом проводили за клініко-біохімічними показниками крові згідно із загальноприйнятими методиками [5].

Клінічні дослідження проводились згідно з етичними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 р.).

**Результати досліджень.** Результати дослідження динаміки маси тіла білих мишей та щурів за умов гострого токсикологічного експерименту наведені в табл. 1.

**Таблиця 1** — Вплив одноразового внутрішньошлункового введення монтморилонітової породи на динаміку маси тіла лабораторних тварин, г,  $M \pm m$ ; n=5

Групи тварин	Вид тварин	Маса тіла		
		3 доба	7 доба	14 доба
Контроль	Миші	19,2±0,12	20,3±0,31	20,9±0,02
	Щури	168,3±0,61	169,1±0,52	170,2±0,07
I	Миші	19,7±0,01	21,03±0,11	21,5±0,12
	Щури	170,9±0,05	171,6±1,12	172,0±1,14
II	Миші	19,3±0,04	20,9±0,03	21,2±0,05
	Щури	170,9±0,01	172,8±1,32	173,4±1,15
III	Миші	19,5±0,02	19,8±0,41	20,4±0,06
	Щури	171,2±0,11	172,9±0,24	173,7±1,63
IV	Миші	20,1±0,12	20,8±0,04	21,3±0,52
	Щури	172,4±1,12	172,7±0,21	173,5±1,45
V	Миші	20,9±0,01	21,2±0,04	21,8±0,95
	Щури	173,2±0,43	174,0±0,11	174,9±0,32

Встановлено, що одноразове внутрішньошлункове введення монтморилонітової породи в дозах 5–25 г/кг маси тіла не викликало вірогідних змін маси тіла тварин дослідних груп, порівняно з показниками у контролі.

Клінічні спостереження показали, що одноразове внутрішньошлункове введення монтморилонітової породи не викликало картини гострого отруєння у білих мишей та щурів. Тварини I, II та III дослідних груп були активними, добре реагували на зовнішні подразники, споживали корм та воду, слизові оболонки рожевого кольору, шерсть гладка і блискуча. Найбільш виражені зміни клінічного стану реєстрували у тварин IV та V дослідних груп протягом першої години досліду. Так, через 10 хв після введення монтморилонітової породи у білих мишей та щурів відмічали пригнічення, слабку реакцію на зовнішні подразники, зниження апетиту та спрагу. Через три години після введення породи клінічних ознак отруєння не реєстрували.

Встановлено, що одноразове введення монтморилонітової породи не вплинуло на стан внутрішніх органів дослідних тварин, зокрема: печінка тварин дослідних груп на 14-ту досліду мала притаманну для органу форму, світло-коричневий колір, капсула гладка блискуча, краї гострі, консистенція пружна, малюнок на розрізі чіткий, зскрібок помірний. Жовчний міхур

довгастої форми, стінка міцна, тонка, заповнений рідиною жовто-зеленого кольору. Нирки тварин дослідних груп на усіх термінах експерименту зберігали притаманну їм форму, були рівномірно забарвлені, темно-вишневого кольору, тонка фіброзна капсула легко знімалася, мала пружну консистенцію, малюнок на розрізі чіткий.

Таким чином, за умов одноразового внутрішньошлункового введення монтморилонітової породи білим мишам та щурам, протягом 14 днів дослідження ознак інтоксикації та загибелі тварин не реєстрували. При визначенні тест-методом кумулятивних властивостей монтморилонітової породи встановлено, що коефіцієнт кумуляції становить 12,9 од, що вказує на слабо виражені кумулятивні властивості даної породи.

За відсутністю загибелі білих щурів і мишей у гострому токсикологічному експерименті при одноразовому внутрішньошлунковому введенні монтморилонітової породи  $DL_{50}$  не встановлено. Тобто,  $DL_{50}$  монтморилонітової породи можна вважати  $\geq 10\ 000$  мг/кг. Згідно з ГОСТ 12.1.007-76 за ступенем токсичності монтморилонітової породи можна віднести до речовин малонебезпечних (4-й клас небезпеки).

Вивчення хронічної токсичності монтморилонітової породи на динаміку маси тіла молодняку свиней наведені в таблиці 2. Слід зазначити, що введення монтморилонітової породи протягом 90 днів у терапевтичній дозі (10 г/кг корму) до раціону молодняку свиней позитивно впливало на прирости живої маси (табл. 2). Встановлено тенденцію до підвищення даного показника у свиней першої дослідної групи на 60-ту, 90-ту добу, а також через 14 днів після припинення препарату на 8,9; 6,9 і 8,4 % відповідно, порівняно з показниками у контрольній групі.

**Таблиця 2** — Вплив тривалого перорального введення монтморилонітової породи на динаміку живої маси ремонтного молодняку свиней, кг,  $M \pm m$ ;  $n=5$

Група тварин	Терміни дослідження, днів			
	30	60	90	14 після припинення введення
Контроль	17,06±0,32	25,70±0,43	48,72±1,56	52,35±2,05
10 г/кг корму	18,01±1,05	28,01±0,92	52,09±3,03	56,74±6,02
50 г/кг корму	18,07±0,07	26,01±0,08	49,21±1,02	52,01±0,06
100 г/кг корму	17,85±1,09	24,96±0,04	48,85±1,26	52,99±1,36

Клінічні спостереження показали, що після тривалого перорального введення монтморилонітової породи не викликало клінічних змін у молодняку свиней.

Встановлено, що внаслідок згодовування породи у дозах 40 г/кг та 200 г/кг корму відбувається вірогідне підвищення рівня загального гемоглобіну в крові дослідних поросят, починаючи з 60- та 90-ої доби відповідно. При цьому зареєстроване підвищення рівня цього показника ( $p \leq 0,05$ ) триває до кінця експерименту навіть через 14 днів після припинення задавання добавки породи, а його значення знаходяться у межах референтного рівня (90 — 120 г/дм<sup>3</sup>).

Слід відзначити, що підвищення рівня загального гемоглобіну реєструється поряд із зростанням кількості еритроцитів ( $p \leq 0,05$ ) у крові дослідних поросят таких груп. У поросят, яким вводили породу до основного раціону в дозі 100 г/кг корму також визначали тенденцію до зростання кількості еритроцитів у порівнянні з контрольними тваринами, але вірогідності набувало лише наприкінці дослідження — через 90 днів після початку задавання.

Під час хронічного потрапляння добавки породи до раціону поросят не було зареєстровано вірогідних змін кількості лейкоцитів і рівня гематокриту у крові тварин дослідних усіх груп.

Таким чином, патологічних змін рівня морфологічних показників крові, що свідчать про відсутність гемотоксичного впливу породи на організм експериментальних поросят усіх дослідних груп. Отримані результати, навпаки, вказують про «позитивний» вплив добавки породи у дозах 10 г/кг та 50 г/кг корму на стан системи кровотворення, а саме — «червоної» крові в організмі молодняку свиней.

Результатами дослідження стану показників білкового профілю в сироватці крові поросят у динаміці експерименту встановлено, що внаслідок тривалого аліментарного надходження добавки породи в усіх дозах в організмі поросят вже через 30 днів реєстрували тенденцію щодо підвищення рівня загального білка, яка набувала вірогідності у групах тварин, що одержували

добавку в дозах 10 г/кг та 50 г/кг корму на 60-ту добу та залишалась такою через 14 діб після закінчення досліду відповідно.

Слід відзначити, що підвищення рівня загального білка у межах його референтних значень (70 — 80 г/дм<sup>3</sup>), відбувалось за рахунок збільшення кількості фракції загальних глобулінів, що поряд із змінами морфологічних показників крові у поросят цих дослідних груп (I, II групи), може свідчити про посилення імунної реактивності в організмі експериментальних поросят під впливом дії монтморилонітової породи у відповідних дозах.

За результатами визначення стану показників гепато-ренальної системи в організмі експериментальних поросят у динаміці досліду, встановлено, що внаслідок тривалого (хронічного) 90-добового надходження породи з кормом в організмі дослідних поросят не реєстрували змін основних метаболітів, рівень яких характеризує функціональний стан печінки та нирок. Так, кількість сечовини та креатиніну, рівень активності основних гепатоспецифічних ферментів — аспартат- і аланінамінотрансфераз (АсАТ, АлАТ) та гама-глутамілтранспетидази (ГГТП) — впродовж експерименту за значеннями були близькими до контрольного рівня цих показників.

Також слід зазначити, що значення даних біохімічних показників крові поросят, як контрольної, так і дослідних груп, в динаміці експерименту були у межах фізіологічної норми та вірогідно не відрізнялися між собою.

Встановлено, що хронічне задавання добавки породи аліментарним шляхом не чинить гепатотоксичної та нефротоксичної дії на організм цільових тварин за умов хронічного експерименту. З іншого боку — за показником приросту живої маси, визначеним типом протеїнограми та станом морфологічних показників крові поросят слід зробити висновок, що добавку монтморилонітової породи у дозах 10 г/кг та 50 г/кг корму доцільно застосовувати як кормову біологічну добавку спрямованої адаптогенної та імунокорегуючої дії на відгодівлі молодняка сільськогосподарських тварин.

**Висновки.** 1. За відсутністю загибелі білих щурів і мишей у гострому токсикологічному експерименті при одноразовому внутрішньошлунковому введенні монтморилонітової породи DL<sub>50</sub> не встановлено. Тобто, DL<sub>50</sub> монтморилонітової породи можна вважати  $\geq 10\ 000$  мг/кг — за ступенем токсичності монтморилонітову породу можна віднести до речовин малонебезпечних (4-й клас небезпеки) та володіє слабо вираженими кумулятивними властивостями.

2. При застосуванні препаратів «Анальцим-Si» та «Споро-лекс» біохімічні показники крові поросят, як контрольної, так і дослідних груп в динаміці експерименту були у межах фізіологічної норми та вірогідно не відрізнялися між собою.

#### **Список літератури**

1. Мачуский А. В. Пробиотик «БИО-ЛЕКС». Инновационная технология в животноводстве / А. В. Мачуский // «Птахівництво 2013»: матеріали ІХ міжнародної конференції, м. Судак, 22–26 вересня, 2013 р. — Асоціація «Союз птахівників України», — 2013 р. — С. 87–89.
2. Пробиотики и пребиотики : практические рекомендации / F. Guarner [и др.]. — Всемирная Гастроэнтерологическая Организация, — 2008. — 24 с.
3. Dash S. K. Selection Criteria for Probiotics [Electronic resource]. — Mode of access : <http://newhope360.com/sitefiles/newhope360.com/files/archive/www.functionalingredientmag.com/pdfs/SelectionCriteriaforProbiotics.pdf>. — Title from the screen.
4. Іщенко, В. М. Використання бентонітів у харчовій промисловості [Текст] / В. М. Іщенко, Т. П. Колотуша, О. М. Полумбрик // Харчова промисловість, — 2013. — № 14. — С. 34–36.
5. Жаров, А. В. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных [Текст] / А. В. Жаров, И. В. Иванов, А. П. Стрельников // — М. : Колос, — 2003. — 400 с.
6. Коцюмбас І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / [Коцюмбас І. Я., Малик О. Г., Патерега І. П. та ін.] — Львів: Тріада плюс, — 2006. — 360 с.

## STUDY OF SAFETY AND TOXICITY OF "ANALTSIM-SI" AND "SPORO-LEX" PREPARATIONS

**Skrypka M. V.**

Odesa State Agrarian University, Odessa, Ukraine

**Kovalenko V. L.**

State Scientific and Control Institute of Biotechnology and Microorganisms Strains, Kyiv, Ukraine

**Machuskyi O. V.**

Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of Agricultural Products of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**Machuska V. A.**

National Scientific Center "Institute of Beekeeping named after P. I. Prokopovich", Kyiv, Ukraine

**Al-Bukur Tarek Yakhya**

Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

**Introduction.** Probiotic microorganisms — are the representatives of normal microbiota of humans and animals, which were selected from the exact organism as a normal inhabitant. Their application is totally justified taking into account the concept of livestock without antibiotics. There is a list of requirements to get probiotics effective such as active strains, testing for safety and efficiency, adequate and clean livestock buildings.

**The goal of the work** — to conduct the study of veterinary preparations "Analcim-Si" and "Sporo-Lex" for safety and toxicity (acute and chronic).

**Materials and methods.** "Analcim-Si" is a montmorillonite rocky from the Volodymyrystke field. The fraction of the rocky is from 0.01 mm to 5 mm. Probiotic "Sporo-Lex" is a mix of probiotic *Bacillus licheniformis* VK-25 and *Bacillus subtilis* MK-3 on a natural standardized sorbent (montmorillonite rocky).

The study of safety and toxicity of the preparations "Analcim-Si" and "Sporo-Lex" was conducted in laboratory and field conditions. Taking into account that the composition of both preparations is montmorillonite rocky from the Volodymyrystke field, the study was subjected to the sorption component.

The estimation of the functional state of the piglet organism during the 90-day setting of feed additives was carried out according to clinical and biochemical parameters of blood in accordance with generally accepted methods.

**Results of research and discussion.** It was established that single intragastric administration of montmorillonite rocks at doses of 5-25 g/kg of body weight did not cause probable changes in the body mass of laboratory animals in experimental groups, compared to the control indicators.

Clinical observations have shown that single intragastric administration of montmorillonite rocks did not cause a pattern of acute poisoning in white mice and rats. The animals of the I, II and III experimental groups were active, responded well to external stimuli, consumed food and water, mucous membranes of pink color, wool was smooth and shiny, urinary and defecation processes remained normal, nervous and cardiovascular systems dysfunctions were not detected, reflex excitability is preserved. Cumulative properties of montmorillonite rock are weakly expressed. In the absence of death of white rats and mice in acute toxicological experiment, DL50 montmorillonite rock can be considered  $\geq 10\ 000$  mg / kg, which according to the degree of toxicity can be attributed to substances of low risk.

Clinical observations have shown that after prolonged oral administration of montmorillonite rock did not cause clinical changes in young pigs.

During the chronic exposure of the rock to the pigs' diet, no significant changes in the number of leukocytes and blood hematocrit in the blood of animals of all experimental groups were reported, indicating no haemotoxic effects of the preparations on the piglets in all experimental groups.

The biochemical parameters of piglet blood, both control and experimental groups, in the dynamics of the experiment were within the limits of the physiological norm and probably did not differ from each other.

It has been established that chronic alteration of the addition of the rock does not effect hepatotoxic and nephrotoxic effects on the body of pigs. On the other hand, it should be concluded that the addition of montmorillonite rocks at doses of 10 g/kg and 50 g/kg of feed should be used as a feed biological additive of directed adaptogenic and immunocorrective action on the indicator of growth of live weight, determined type of proteinuria and the state of morphological parameters of blood of piglets. on fattening of young animals of farm animals.

**Conclusions.** 1. Taking into account the absence of death of white rats and mice in acute toxicological experiment with single intragastric administration, the preparations "Analcim-Si" and "Sporo-Lex" montmorillonite rock can be attributed to the low hazard, which have weakly expressed cumulative properties.

2. During the application of "Analcim-Si" and "Sporo-Lex", the biochemical parameters of piglet's blood, both control and experimental groups, in the dynamics of the experiment were within the limits of the physiological norm and probably did not differ from each other.

**Keywords:** toxicity, safety, probiotic, laboratory animals, piglets.