

УДК 619:615:636.2+619:618.14–002:636.2

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО
ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ВЕТОМ 21. 77****Г.А. Ноздрин**, доктор ветеринарных наук, профессор²**А.А. Леляк**, кандидат биологических наук¹**Э.Р. Рафикова**, аспирант¹Новосибирский государственный аграрный университет²Научно-производственная фирма

«Исследовательский центр»

E-mail: pchelka-leta@mail.ru

Ключевые слова: ветом, пробиотический препарат, класс токсичности, токсичность, доза

Реферат. *Статья посвящена определению класса токсичности нового пробиотического препарата класса ветом. Исследование острой токсичности проводили на основе методики OECD, TEST NO420:2001 «Оценка острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы» межгосударственного стандарта методов испытания по воздействию химической продукции на организм человека. При проведении исследования использовали опытных животных одного пола в количестве 40 мышей. Препарат вводили перорально один раз в сутки ежедневно в дозах 5, 50, 300, 2000 и 4000 мкл/кг массы согласно вышеуказанной методике в течение 5 суток. Исследование по определению острой токсичности проводили в течение 14 суток. Животным контрольной группы препарат не задавали. Реакцию животных на препарат учитывали через 30 мин, а затем каждые 24 ч. Критерием оценки являлись физиологическое состояние мышей, сохранность, изменение массы, морфометрический анализ внутренних органов. При проведении исследования физиологическое состояние опытных животных не изменялось, установлено их 100 %-я сохранность. По данным наших исследований, изучаемый препарат относится к IV классу токсичности.*

Как показывает передовая наука в области медицины и ветеринарии, современное состояние здоровья населения страны, а в животноводстве – молодняка крупного рогатого скота, свиней и птицы требует широкого использования различного рода препаратов, и в первую очередь пробиотиков, для восстановления и поддержания иммунно-биологического гомеостаза [1].

До настоящего времени отмечается тенденция к росту болезней животных и птиц, что обусловливается интенсивной эксплуатацией, высокой продуктивностью, несбалансированностью рационов, кормами невысокого качества. В этой связи возникает необходимость разработки более эффективных экологически безопасных препаратов, использование которых будет в значительной степени способствовать обеспечению биологической защиты, сохранению здоровья и обеспечению высокой продуктивности животных [2–7].

В ветеринарной медицине для улучшения процессов пищеварения, стимуляции интенсивности роста и развития, профилактики заболеваний, улучшения качества получаемой продукции, коррекции нормальной микрофлоры кишечника и иммунного статуса используют пробиотические препараты

на основе *Bacillus subtilis*, поскольку их действие адекватно сложившимся в процессе эволюции механизмам защиты макроорганизма от патогенных воздействий внешней среды [8–15]. Применение пробиотических препаратов в животноводстве и птицеводстве позволяет усовершенствовать существующие системы разведения и кормления сельскохозяйственных животных и птиц, становится важным компонентом современного рационального кормления животных [16, 17].

До настоящего времени в ветеринарии широко применяются антибиотики, что приводит к значительному нарушению симбиотных микробных систем в пищеварительном тракте, возникновению дисбактериозов, развитию антибиотикорезистентности у патогенных микроорганизмов, накоплению остаточного количества антибиотиков в продукции животноводства и понижению ее качества.

Пробиотические препараты являются альтернативой антибиотикам. Их применение способствует также нормализации состава кишечной микрофлоры после антибиотикотерапии. Они могут успешно применяться для повышения продуктивности животных, переваримости кормов, сни-

жения затрат на единицу продукции и получения экологически чистой продукции животноводства.

Согласно данным литературных источников, применение пробиотических препаратов позволяет повысить продуктивность животных на 15–20%, эффективность лечения желудочно-кишечных заболеваний – на 30–40% и сократить заболеваемость молодняка на 20–30% [18].

Вместе с тем существует ряд проблем и недостатков, ограничивающих применение пробиотических препаратов: несовместимость с большинством антибактериальных препаратов; активизация в желудочно-кишечном тракте не более 5–10% лиофилизированных бактерий; неспособность колонизировать кишечник в течение длительного времени; возможное развитие аллергических реакций [3, 5].

Пробиотики на основе бацилл в форме растворов, интенсивно разрабатываемые в последнее десятилетие, лишены большинства из этих недостатков. Согласно современным требованиям, пробиотические бактерии в этой лекарственной форме должны находиться живыми и в большом количестве, длительно сохранять жизнеспособность [19], выживать в желудочно-кишечном тракте, а также быть способными приносить пользу здоровью [20]. Одним из представителей пробиотических препаратов нового поколения, отвечающих вышеперечисленным требованиям и применяемых в практической ветеринарии, являются пробиотики класса ветом.

Цель исследования – определение класса токсичности нового пробиотического препарата ветом 21.77.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клинические испытания препарата проводили на базе Научно-производственной фирмы «Исследовательский центр». Объектом исследования являлся пробиотический препарат ветом 21.77.

Исследование острой токсичности проводили на основе методики OECD, TEST NO420:2001 «Оценка острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы» межгосударственного стандарта методов испытания по воздействию химической продукции на организм человека.

В эксперименте использовали здоровых молодых половозрелых белых мышей двухмесячного возраста в количестве 40 голов, которые предварительно прошли месячное карантиниро-

вание. По принципу аналогов были сформированы опытная и контрольная группы по 20 голов в каждой. Руководствуясь методикой OECD, TEST NO420:2001 «Оценка острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы», препарат опытным мышам вводили перорально, ежедневно на протяжении 5 суток, используя следующий диапазон доз: 5, 50, 300, 2000 и 4000 мкл/кг массы соответственно. Перед введением препарата животных 4 ч не кормили, затем взвешивали и вводили ветом. После введения препарата мышам не кормили 1–2 ч. Учет реакции проводили в первые 30 мин, затем через каждые 24 ч – клинический осмотр и взвешивание мышам.

По окончании исследования, длительность которого составила 14 дней, животных из контрольной и опытных групп подвергли аутопсии для проведения морфометрического анализа внутренних органов.

Класс токсичности препарата определяли в соответствии с «Методическими указаниями по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве» [21]. В процессе изучения класса токсичности регистрировали физиологическое состояние, интенсивность роста, заболеваемость и сохранность, морфометрические изменения паренхиматозных органов. Статистическую обработку результатов исследований осуществляли с использованием программы OpenEpi.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Физиологическое состояние мышам контрольной и опытной групп до применения препарата не имело достоверных различий: мышам средней упитанности, волос хорошо удерживается в фолликулах, целостность кожного покрова не нарушена, алопеции, покраснения отсутствуют, тургор кожи в норме. Конъюнктивы глаз, слизистые оболочки носовой и ротовой полости, половых органов и анального отверстия розового цвета, влажные, без видимых повреждений. Акт дефекации безболезненный. Положение тела в пространстве естественное. У 90% животных опытной и контрольной групп регистрировали беспокойство.

Через 30 мин после назначения ветома 21.77 в дозе 5 мкл/кг массы достоверных изменений в физиологическом состоянии животных опытной и контрольной групп не наблюдалось (табл. 1, рисунок).

На 2-е сутки исследований препарат применяли в дозе 50 мкл/кг массы. У мышам опытных и контрольных групп также не отмечали измене-

ний физиологического состояния. На 3-и сутки исследований дозу пробиотического препарата увеличили до 300 мкл/кг массы. У животных опытной группы отмечали повышение аппетита, интенсивности роста, двигательной активности в сравнении с аналогами из контрольной группы. Волосяной покров блестящий. Опытные мыши по приросту абсолютной массы превышали животных контрольной группы на 1,98%. У 20% животных контрольной группы регистрировали повреждения кожного покрова у основания хвостового отростка и у 80% – беспокойство.

На 4-е сутки исследования ветом 21.77 назначали в дозе 2000 мкл/кг массы. Мыши опытной группы имели хороший аппетит, были более под-

вижны и по приросту абсолютной массы превышали аналогов из контроля на 2,82%.

На 5-е сутки исследования препарат применяли в дозе 4000 мкл/кг массы. У животных опытной группы регистрировали такие же изменения физиологического состояния, как и при назначении препарата в дозе 2000 мкл/кг массы. Прирост массы у животных опытной группы был выше, чем у мышей из контрольной группы, на 2,93%.

Абсолютная масса мышей опытной группы на 14-е сутки исследований была выше, чем у аналогов из контрольной группы, на 5,7%.

Таким образом, при применении препарата в изучаемых дозах не установлено его отрицательного воздействия на физиологическое состояние организма опытных животных.

Таблица 1

Абсолютная масса подопытных животных, г

Группа	Доза препарата, мкл/кг	Дни исследования				
		1	2	3	4	5
Контрольная	-	21,72 ±0,08	21,84 ±0,08	22,19 ±0,07	22,71 ±0,09	23,04 ±0,09
Опытная	-	21,69 ±0,09	-	-	-	-
	5	21,82 ±0,08	-	-	-	-
	50	-	22,38 ±0,08	-	-	-
	300	-	-	23,16 ±0,07	-	-
	2000	-	-	-	23,69 ±0,09	-
	4000	-	-	-	-	23,89 ±0,08

Более того, животные опытных групп были более активными, у них отмечался хороший аппетит, и, начиная с дозировки 300 мкл/кг массы, по интенсивности роста и приросту абсолютной массы они превышали аналогов из контрольной группы. Максимальный прирост абсолютной массы регистрировали при применении препарата в дозе 300 мкл/кг массы.

В течение опытного периода не регистрировали каких-либо заболеваний и падежа подопытных животных.

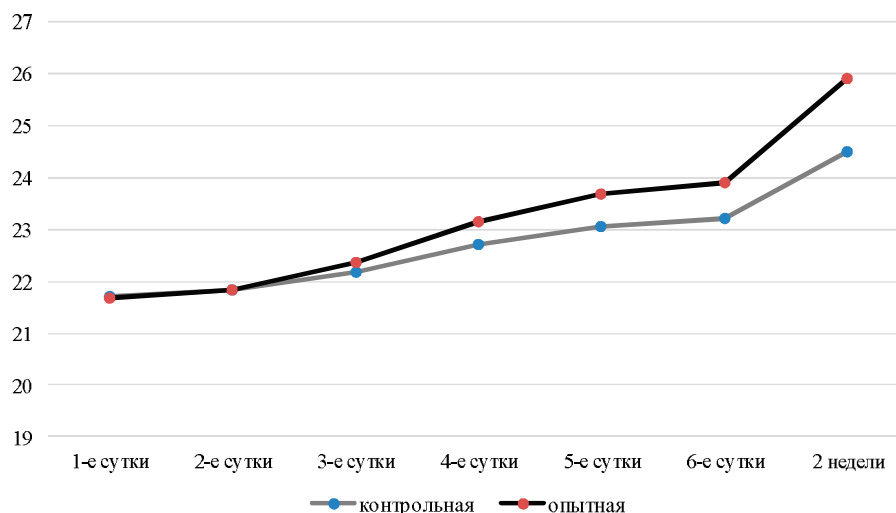
По внешнему виду и структуре изучаемые органы (сердце, легкие, почки, печень, селезенка, кишечник, желудок) животных опытной и контрольной групп не имели достоверных различий.

Абсолютная масса сердца, легких, почек, печени, селезенки, кишечника, желудка у опытных мышей была выше, чем у аналогов из контрольной группы, на 7,7; 5,9; 2,7; 2,1; 11,8; 4,1; 2,7% соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Абсолютная масса внутренних органов подопытных мышей

Органы	Абсолютная масса, г	
	Контрольная группа	Опытная группа
Сердце	0,13±0,01	0,14±0,01
Легкие	0,17±0,02	0,18±0,04
Почки	0,37±0,01	0,38±0,02
Печень	1,42±0,06	1,45±0,04
Селезенка	0,17±0,01	0,19±0,01
Кишечник	1,72±0,03	1,79±0,04
Желудок	1,09±0,03	1,12±0,05



Абсолютная масса подопытных мышей за период исследования

Таким образом, согласно данным наших исследований, ветом 21.77 при применении в дозах от 5 до 4000 мкл/кг массы не оказывал отрицательного влияния на физиологическое состояние и морфометрические показатели изучаемых органов. По интенсивности роста и развития животные опытных групп превышали аналогов из контрольной группы. Аналогичным образом изменялась и абсолютная масса изучаемых внутренних органов. В процессе эксперимента не регистрировали заболеваний и падежа подопытных мышей.

ВЫВОДЫ

1. Ветом 21.77 при применении в диапазоне доз от 5 до 4000 мкл/кг массы не оказывал токсического

влияния на организм мышей. Животные опытной группы по физиологическому состоянию организма и морфометрическим параметрам изучаемых органов не имели достоверных различий относительно аналогов из контрольной группы.

2. Мыши опытной группы по интенсивности роста превышали аналогов из контрольной группы при применении препарата в дозе 300, 2000, 4000 мкл/кг за период эксперимента на 5,7%. Максимальный прирост абсолютной массы регистрировали при применении препарата в дозе 300 мкл/кг массы животного.

3. По данным наших исследований, ветом 21.77 относится к IV классу токсичности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Рокия М. Применение пробиотика Галлиферм при колибактериозе кур: дис. ... канд. вет. наук. – М., 1994. – 157 с.
2. Пробиотики на основе спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus* и их использование в ветеринарии / Л.Ф. Бакулина, И.В. Тимофеев, Н.Г. Перлишова [и др.] // Биотехнология. – 2001. – № 2. – С. 48–58.
3. Данилевская Н.В. Фармакологические аспекты применения пробиотиков // Ветеринария. – 2005. – № 11. – С. 6–10.
4. Малик Н.И., Панин А.Н. Ветеринарные пробиотические препараты // Ветеринария. – 2001. – № 1. – С. 46–51.
5. Субботин В.В., Данилевская Н.В. Новые пробиотики // Животновод. – 1998. – № 4. – С. 20.
6. Тараканов Б.В. Использование пробиотиков в животноводстве. – Калуга, 1998. – С. 54.
7. Тараканов Б.В. Механизм действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных // Ветеринария. – 2000. – № 1. – С. 47–54.
8. Ноздрин Г.А., Зеленков В.Н. Новые иммуномодуляторы и лечебно-профилактические средства // Новые фармакологические средства в ветеринарии: тез. докл. 4-й Межгосударств. науч.-практ. конф. – Л., 1992. – С. 31–32.

9. Влияние пробиотических препаратов велес 6.59 и ветом 3.3 на прирост живой массы у цыплят / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова [и др.] // Новые фармакологические средства в ветеринарии: материалы XIX Междунар. науч.-практ. конф. – СПб., 2007. – С. 54.
 10. Научные основы применения пробиотиков в птицеводстве / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова, А.И. Шевченко [и др.]; Новосиб. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2005. – С. 224.
 11. Основные итоги разработки и применения пробиотиков / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова, А.Г. Ноздрин [и др.] // Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Фундаментальные и клинические аспекты: науч.-практ. журн. – 2007. – № 1–2. – С. 58.
 12. Ноздрин Г.А., Демина Е.Н. Хронофармакологические аспекты влияния пробиотического препарата Ветом 1.1 на содержание общего белка и его фракций в крови у здоровых телят // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2007. – № 8. – С. 74–79.
 13. Иванова А.Б. Фармакологическая характеристика пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* и эффективность их применения в птицеводстве: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – СПб., 2008. – С. 34.
 14. Иванова А.Б., Ноздрин А.Г. Влияние пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* на микробиоценозы кишечника животных в норме и при патологии // Вестн. КрасГАУ. – 2006. – № 11. – С. 141–143.
 15. Иванова А.Б., Ноздрин Г.А. Влияние пробиотического препарата Ветом 3 на качество мяса цыплят-бройлеров // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2007. – № 8. – С. 69–74.
 16. Fuller R. Probiotics in man and animals // J. Appl. Bacteriol. – 1989. – Vol. 66, N 5. – P. 365–378.
 17. A new generation of probiotic fodder additives / N.A. Ushakova, R.V. Nekrasov, V.G. Pravdin [et al.] // Fundamental research. – 2012. – N 1. – P. 25.
 18. Тараканов Б.В., Николичева Т.А., Алешин В.В. Пробиотики. Достижения и перспективы использования в животноводстве // Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки: тр. ВИЖ. – 2004. – Вып. 62, Т. 3. – С. 69–73.
 19. Эффективность применения биологических препаратов (пробиотики и бактериофаги) при лечении коров с острым течением эндометрита / Г.И. Григорьева, И.В. Гордеева, М.А. Кульчицкая [и др.] // Ветеринарная патология. – 2006. – № 1. – С. 23.
 20. Fuller R. Probiotic foods // Current use and future developments; Int Food Ingrid. – 1993. – P. 23–26.
 21. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве // Ветеринарные препараты: справочник / сост.: Л.П. Малахин [и др.]; под ред. А.Д. Третьякова. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 239–246.
-
1. Rokiya M. *Primenenie probiotika Galliform pri kolibakterioze kur* [The use of probiotic Galliform chickens with colibacillosis]. Moscow, 1994. 157 p.
 2. Bakulina L.F., Timofeev I.V., Perlshova N.G. i dr. *Biotekhnologiya*, no. 2 (2001): 48–58.
 3. Danilevskaya N.V. *Veterinariya*, no. 11 (2005): 6–10.
 4. Malik N.I., Panin A.N. *Veterinariya*, no. 1 (2001): 46–51.
 5. Subbotin V.V., Danilevskaya N.V. *Zhivotnovod*, no. 4 (1998): 20.
 6. Tarakanov B.V. *Ispol'zovanie probiotikov v zhivotnovodstve* [The use of probiotics in animal husbandry]. Kaluga, 1998. pp. 54.
 7. Tarakanov B.V. *Veterinariya*, no. 1 (2000): 47–54.
 8. Nozdrin G.A., Zelenkov V.N. *Novye farmakologicheskie sredstva v veterinarii* [Conference proceedings]. Leningrad, 1992. pp. 31–32.
 9. Nozdrin G.A., Ivanova A.B. i dr. *Novye farmakologicheskie sredstva v veterinarii* [Conference proceedings]. – Sankt-Peterburg, 2007. pp. 54.
 10. Nozdrin G.A., Ivanova A.B., Shevchenko A.I. i dr. *Nauchnye osnovy primeneniya probiotikov v ptitsevodstve* [The scientific basis for the use of probiotics in poultry]. Novosibirsk, 2005. pp. 224.
 11. Nozdrin G.A., Ivanova A.B., Nozdrin A.G. i dr. *Probiotiki, prebiotiki, sinbiotiki i funktsional'nye produkty pitaniya. Fundamental'nye i klinicheskie aspekty*, no. 1–2 (2007): 58.
 12. Nozdrin G.A., Demina E.N. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki* [Siberian herald of Agricultural Science], no. 8 (2007): 74–79.
 13. Ivanova A.B. *Farmakologicheskaya kharakteristika probiotikov na osnove Bacillus subtilis i effektivnost' ikh primeneniya v ptitsevodstve* [Pharmacological characterization of probiotic *Bacillus subtilis* based on efficacy and their use in poultry]. – Sankt-Peterburg, 2008. 34 p.

14. Ivanova A. B., Nozdrin A. G. *Vestnik KrasGAU*, no. 11 (2006): 141–143.
15. Ivanova A. B., Nozdrin G. A. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki* [Siberian herald of Agricultural Science], no. 8 (2007): 69–74.
16. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 66, no. 5 (1989): 365–378.
17. Ushakova N. A., Nekrasov R. V., Praydin V. G. et al. A new generation of probiotic fodder additives. *Fundamental research*, no. 1 (2012): 25.
18. Tarakanov B. V., Nikolicheva T. A., Aleshin V. V. *Proshloe, nastoyashchee i budushchee zootekhnicheskoy nauki* [Proceedings VIZH], Vyp. 62, T. 3 (2004): 69–73.
19. Grigor'eva G. I., Gordeeva I. V., Kul'chitskaya M. A. i dr. *Veterinarnaya patologiya*, no. 1 (2006): 23.
20. Fuller R. Probiotic foods. *Current use and future developments*; Int Food Ingrid. 1993. pp. 23–26.
21. Malakhin L. P. i dr. *Veterinarnye preparaty: spravochnik* [Veterinary medicine: directory]. Moscow: Agropromizdat, 1988. pp. 239–246.

ACUTE TOXICITY OF NEW PROBIOTIC VETOM 21. 77

Nozdrin G.A., Leliak A.A., Rafikova E.R.

Key words: Vetom, probiotic, class of toxicity, toxicity, dose.

Abstract. *The paper is devoted to defining the class of toxicity of new vetom probiotic. The research on acute toxicity was carried out on the basis of methods of OECD, TEST NO420:2001 "Assessment of acute toxicity at intragastric intake by means of the fixed dose method" international standard applied in testing methods on the impact of chemical production on the human body. The researchers used 40 experimental mice of the same gender. The specimen was applied orally once a day dosed as 5, 50, 300, 2000 and 4000 mcl/kg of mass during 5 days. The research on acute toxicity was conducted during 14 days. The animals of control group didn't use the specimen. The animal response was investigated in 30 minutes and every 24 hours. The assessment was based on physiological condition of mice, livability, mass changes and morphometric analysis of organs. The physiological condition of experimental animals didn't change and the authors observed 100% livability. The investigated specimen is referred to IV toxicity class.*