

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

**ПОНОСИМОСТ И СУБХРОНИЧНА ТОКСИЧНОСТ
НА ЖЕЛЕЗЕН МЕТИОНАТ ПРИ ПИЛЕТА-БРОЙЛЕРИ,
СРАВНИТЕЛНО С ЖЕЛЕЗЕН СУЛФАТ**

АНИ АРНАУДОВА-МЕЙТИ, ТОНИ ТОДОРОВ, КАТЕРИНА ТОДОРОВА*,
ДИМИТРИЧКА ДИМИТРОВА**, ТАНДЖУ МЕХМЕДОВ,
ЗАПРЯНКА ШИНДАРСКА, СОФИЯ ИВАНОВА***,
ГЕНО АНГЕЛОВ, ПЕТЪР ДИЛОВ

Лесотехнически университет, Факултет по ветеринарна медицина - София

*Институт по експериментална морфология, патология
и антропология с музей при БАН - София

**Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет – Стара Загора

***Национален диагностичен научноизследователски
ветеринарномедицински институт - София

Пилетата-бройлери за разлика от бозайниците през сукалния им период, въпреки бързия им растеж, рядко изпадат в железен дефицит, довеждащ до анемия (вирусната анемия при пилетата не е железозависима). Това е така, защото пилетата също се раждат с ниски запаси от желязо – 0.6 до 0.7 mg (Elvehjem and Hart, 1929), но от ранна възраст получават храна, съдържаща протеинови компоненти (шротове, рибни брашна и др.) с високи нива на желязо (Б. Маринов, 2011). NRC (1994) приема, че потребностите от желязо на пилетата бройлери са 80 ppm, а балансираните им зърнено-соеви смески обикновено съдържат над 100 ppm желязо. Elvehjem and Hart (1929) доказаха, че образуването на хемоглобина при пилетата е в зависимост от наличието на желязо и малки количества мед. По-късно (1933 г.) те предложиха и добавянето на непречистени (контаминирани с мед) разтворими неорганични соли на желязото, от които и до днес най-широко се прилага железен сулфат (хептахидрат). Днес е изяснено, че желязото в храната на пилетата

е от значение за тяхната продуктивност. Най-често препоръчата добавка от неорганичните източници на желязо във фуража на пилетата-бройлери е от 20 до 40 ppm (Сурджийска, 1996; Vahl et al., 1987; Lyons, 2006; Hill and Matrone, 1961). При боледуване на пилетата от кокцидиоза концентрацията на желязо във фуража им се увеличава на 60 ppm (Southern and Baker, 1982). Недостатъците на железните соли – ограничена и неравномерна резорбция и биоактивност, висока степен на екскреция при прилагането им с фуражите на пилетата, допринесоха за разработване и внедряване през 80-те години на миналия век на органични минерални добавки. Първо в САЩ, а след това и от страните в Европейския съюз (Lyons, 2006; Bao et al., 2007). Органичните микроминерали са химически свързани с хелатни агенти или лиганди под формата на комплекси с аминокиселини или цяла белтъчна молекула (хелати, протеинати). Хелатно свързване съществува при много от микроминералите в природата – растения и др. В органична фор-

ма те са протектирани срещу реакции с други химични съединения (например с витамините в премиксите и храните). Те са с повишена биологична активност, стимулират метаболизма на животните и подобряват тяхната продуктивност. Приема се, че независимо от добрата поносимост на добавките, съдържащи желязо от пилетата, страничните ефекти на високите концентрации не са проучени достатъчно (McGhee et al., 1965; Vahl et al., 1987).

У нас е синтезиран български железен комплекс на метионина с добри резултати при свине-майки и прасета (Петричев, 2006). Установиха се предимства на железния метионат спрямо железния сулфат по отношение на течливост (хомогенизиране с фуражите), фармакокинетика и утилизация при пилета-бройлери (Арнаудова-Мейти и сътр., 2013; Arnaudova-Matey et al., 2013).

Целта на настоящите изследвания бе да се оценят токсикологичните рискове от прилагане на железния метионат при пилета-бройлери в еднократна и многократни дози, сравнително с железен сулфат (хептахидрат).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

На проучване бе подложен железен метионат (Fe-met.), синтезиран в катедрата по Органична химия при Химико-технологичния и металургичен университет – София. Той съдържа 13.3% желязо и 34% метионин с молекулна маса 426. Продуктът бе анализиран чрез атомноабсорбционен метод. За сравнение бе използван железен сулфат ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) на фирмата Merk, съдържащ 20% желязо (Fe-S).

В експериментите бяха включени 40 пилета-бройлери на 20-дневна възраст и други 55 пилета на 10-дневна възраст, 4 линеен хибрид Ross-Иков, от двата пола. Всички пилета след разпределянето им по групи бяха отглеждани в клетки от цинкована мрежа, с автоматични поилки и хранилки. Базисният комбиниран фураж (без добавеното желязо), използван за хранене на всички пилета бе изработен по рецепта (основен компонентен и хранителен състав на смеската: царевица – 42.2875%, пше-

ница – 15.0%, соев шрот (46% СП) – 30.0%, сънпро (45% СП) – 3.0%, слънчогледово масло – 3.0%, с обичайните добавки, суров протеин – 21.33%, сурови мазнини – 5.489%, сурови влакнини – 4.1%, ОЕ – 2717.23 kcal/kg) за растящи бройлери и съдържаеше средно от 5 произволно избрани проби по 119 ± 5 ppm желязо (анализът е проведен с атомноабсорбционен спектрометър с графична кювета, модел Spectra AA800 r Spectra AA220, Varian).

Възприехме да храним опитните и контролните пилета с пълноценна смеска, която позволява да се реализира генетичният им потенциал – правилен подход при токсикологични изследвания. Включеният в смеската витаминно-микроелементен премикс бе приготвен по наша рецепта от „Биовет” Пещера, без участие в състава му на железен продукт. На 10-ия и 25-ия ден от опита в 2 последователни дни пилетата бяха третирувани чрез водата с продукта Bioselet (състав в 1 ml: Natrii selnis 0.6 mg; Vit. E 25.0 mg) „Биовет” в доза 0.2 ml/l вода.

Пилетата на 20-дневна възраст (40 броя) бяха разделени рандометрично по 5 броя, в 8 групи и включени в опит за определяне на минималната токсична доза (LD_{05}) на сравняваните продукти. Те бяха претеглени и третирувани на гладно, интраинглувиално, с помощта на мека гумена сонда, стоманена фунийка и добавка на дестилирана вода, в начални дози за двата продукта от 500 mg/kg м., нарастващи на равни интервали до 2000 mg/kg м.. След третирането пилетата имаха свободен достъп до базисната смеска и питейна вода. Те бяха наблюдавани ежедневно за проява на апетит, здравословно състояние и смъртност в продължение на 7 дни.

Пилетата на 10-дневна възраст (55 броя) бяха разделени рандометрично на 5 групи по 11 броя, поставени в клетки с автоматични хранилки и поилки. Пилетата бяха третирувани 35 дни (субхроничен опит) чрез базисния фураж с обсъжданите продукти, както следва: I група – с 40 ppm железен метионат, II група – с 300 ppm железен метионат, III група – с 40 ppm железен сулфат, IV група с 300 ppm железен сулфат, V група – контролна (без добавка на

желязо). Продуктите, съдържащи желязо бяха добавяни и смесвани с базисната смеска ръчно. Контролираше се апетитът и здравословното състояние (клинично). В началото на опита, на 17-ия ден и на 35-ия ден в хода на изследването бяха проследени индивидуалните тегла по на 8 пилета от група и бе вземана кръв от по 10 пилета от група от латералната крилна вена с помощта на виоли, обработени с подходящ антикоагулант или интактни. Кръвта бе подлагана на хематологични и клинично-химични изследвания. Броят на левкоцитите и еритроцитите бяха анализирани с апарат Hema Screen 18 на фирмата Hospitex Diagnostics. Хемоглобинът бе определян като цианметхемоглобин по метода на W. C. Crosby и R. K. Cannan в модификация на R. Green и C. Teal (Каракашев, Пандев, 1970). Клинично-химичните показатели (общ белтък, албумин, глюкоза, урея, АСАТ, АЛАТ) бяха анализирани в кръвен серум с тестове на фирма Human. На 35-ия ден бяха евтаназирани и обезкървени по 5 пилета от група. На умъртвените пилета бяха проведени потологоанатомични изследвания и бяха взети материали от вътрешни органи за хистологични изследвания (сърце, черен дроб, бъбреци, тимус, слезка и бурза фабриций).

Резултатите бяха обработени статистически по два различни метода – параметричен (one way ANOVA) и непараметричен (Mann-Whitney U test). Доверителните граници ($t.S\bar{x}$) бяха определени по метода, описан от Белевский (1963).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При пилетата-бройлери, третирани с обсъжданите продукти *интраинглувиално* се установи, че максимално поносимата доза (LD_0) за железния сулфат е 1000 mg/kg м., а за железния метионат е 1500 mg/kg м.; минималната летална доза (LD_{05}) е 1500 mg/kg м. за железния сулфат и 2000 mg/kg м. за железния метионат. Разболяха се и умряха единични пилета на 2-ия и 3-ия ден след третирането с прояви на безапетитие, депресия, сънливост, учестено дишане, отпускане на крилата, паре-

за на крайниците, с летален изход в следващите 5-6 h.

При всички пилета, включени в изследването за *субхронична токсичност* не бяха установени клинични прояви на заболяване или смъртност. От табл. 1 и фиг. 1 се вижда, че на 17-ия ден разликите в *теглото* на пилетата от различните групи, включително контролната не са значителни. На 35-ия ден обаче, пилетата от контролната група изостават по тегло от опитните пилета със 7-8%. Съществуваха тенденция пилетата, получавали с фуража железен метионат да нарастват по-добре на тегло, в сравнение с получавалите железен сулфат, изразено по-добре при високата доза. Например пилетата от II група тежат 1.819 kg срещу 1.781 kg при пилетата от IV група ($P>0.05$). Пилетата, получавали високите дози от сравняваните продукти (300 ppm) не се различаваха значимо по растеж от пилетата, получавали ниски дози (40 ppm).

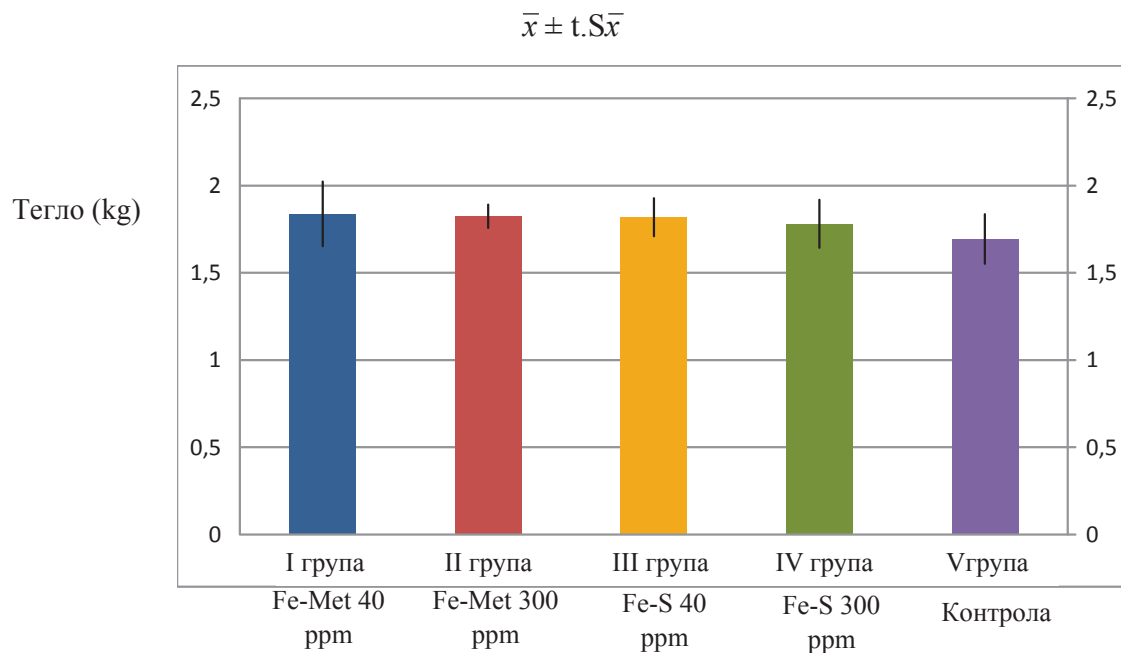
Резултатите от *хематологичните* изследвания са представени в табл. 2. Вижда се, че броят на левкоцитите за 35-дневния период нараства както при опитните, така и при контролните пилета, но значимо по-малко е увеличението им от II и III група (железен метионат), в сравнение с останалите групи, при които броят излиза извън референтните стойности. Няма значима разлика между броя на левкоцитите при ниската и високата доза на железния метионат и железния сулфат. Съдържанието на хемоглобин в кръвта на пилетата от опитните и контролната група също нараства през опитния период, изразено по-добре на 17-ия ден (табл. 2 и фиг. 2). На 35-ия ден е показателно, че при опитните и контролните пилета стойностите са почти изравнени. Все пак съществува тенденция и при двата обсъждани продукта при по-високата доза стойностите на хемоглобина да са по-ниски ($P>0.05$). В броя на еритроцитите при опитните и контролните пилета не се наблюдава нарастване през 35-дневния период и не се отчитат съществени разлики при пилетата от различните групи, които си остават в референтните граници.

Резултатите от *клинично-химичните* изслед-

Таблица 1. Субхронична токсичност – тегло, kg
Table 1. Subchronic toxicity – body weight, kg

Групи	$n = 8$	0 - ден	17-ти ден	35-ти ден
I Fe-Met 40 ppm	\bar{x}	0.195	0.781	1.838 ^{u₁}
	$s\bar{x}$	0.0155	0.027	0.079
	t. $s\bar{x}$	0.075	0.061	0.186
II Fe-Met 300 ppm	\bar{x}	0.188	0.838	1.825
	$s\bar{x}$	0.082	0.026	0.028
	t. $s\bar{x}$	0.185	0.069	0.066
III Fe-S – 40 ppm	\bar{x}	0.200	0.819	1.819
	$s\bar{x}$	0.094	0.027	0.046
	t. $s\bar{x}$	0.212	0.063	0.148
IV Fe-S – 300 ppm	\bar{x}	0.194	0.756	1.781
	$s\bar{x}$	0.062	0.022	0.058
	t. $s\bar{x}$	0.140	0.051	0.136
V Контролна	\bar{x}	0.188	0.775	1.694
	$s\bar{x}$	0.013	0.019	0.060
	t. $s\bar{x}$	0.029	0.044	0.141

Статистически значима разлика спрямо контролната група, изчислена по непараметричния метод Mann-Whitney U-test: u_1 – при $P < 0.05$; u_2 – при $P < 0.01$.



Фиг. 1. Субхронична токсичност - тегло, 35-ти ден
Fig. 1. Subchronic toxicity - body weight, 35th day

Таблица 2. Субхронична токсичност - хематологични показатели
 Table 2. Subchronic toxicity - haematological parameters

Показател	0-ден ; n=10			17-ти ден; n=10			35-ти ден; n=10		
	Leu 10 ⁹ /L	Er 10 ¹²	Hb g/L	Leu 10 ⁹ /L	Er 10 ¹²	Hb g/L	Leu 10 ⁹ /L	Er 10 ¹²	Hb g/L
Реф. стойност	20.0-32.0	2.5-4.0	65.0-130.0	20.0-32.0	2.5-4.0	65.0-130.0	20.0-32.0	2.5-4.0	65.0-130.0
I Fe-Met=40 ppm	\bar{x} 26.734	2.950	71.856	29.100 ^{u2;a3}	2.505	83.237 ^{a3; b1}	31.230 ^{u2;a2}	2.630	82.337
	$S\bar{x}$ 1.220	0.470	4.622	1.077	0.086	3.011	0.236	0.096	3.102
II Fe-Met= 300 ppm	\bar{x} 25.571	2.826	69.830	29.670 ^{u2;a3; b2}	2.496	88.000	30.547 ^{u2;a3}	2.491	80.960
	$S\bar{x}$ 1.446	0.107	4.224	0.783	0.096	2.384	0.351	0.051	2.105
III Fe-S= 40 ppm	\bar{x} 25.457	2.756	74.400	32.396 ^{u2;a1}	2.715	95.940 ^{u1;a3}	32.903 ^{u2;a3}	2.438	83.850
	$S\bar{x}$ 1.567	0.037	5.680	0.816	0.061	4.000	1.566	0.080	4.998
IV Fe-S= 300 ppm	\bar{x} 23.630 ^{u2;a3;b2}	2.648	70.088	41.853 ^{u2;a3;}	2.734	86.650	38.180	2.572	79.570
	$S\bar{x}$ 1.444	0.057	5.445	0.780 ^{b2}	0.060	3.420 ^{a3}	1.833	0.055	2.723
V Контролна	\bar{x} 27.059	2.671	66.270	34.660	2.548	83.879	36.950	2.603	82.620
	$S\bar{x}$ 1.386	0.090	1.333	0.360	0.263	3.820	1.075	0.059	1.436

Статистически значима разлика спрямо контролната група, изчислена по непараметричния метод Mann-Whitney U-test: u_1 - при $P < 0.05$; u_2 - при $P < 0.01$.

Статистически значима разлика спрямо контролната група, изчислена по параметричния метод One-way ANOVA: a_1 - при $P < 0.05$; a_2 - при $P < 0.01$; a_3 - при $P < 0.001$.

b1 - статистическа значима разлика между I и III група, изчислена по метода Mann-Whitney U-test, при $P < 0.05$

b2 - статистическа значима разлика между II и IV група, изчислена по метода One-way ANOVA, при $P < 0.05$

Таблица 3. Субхронична токсичност – клиничко-химични показатели ($n=10$)
 Table 3. Subchronic toxicity - chemistry parameters ($n=10$)

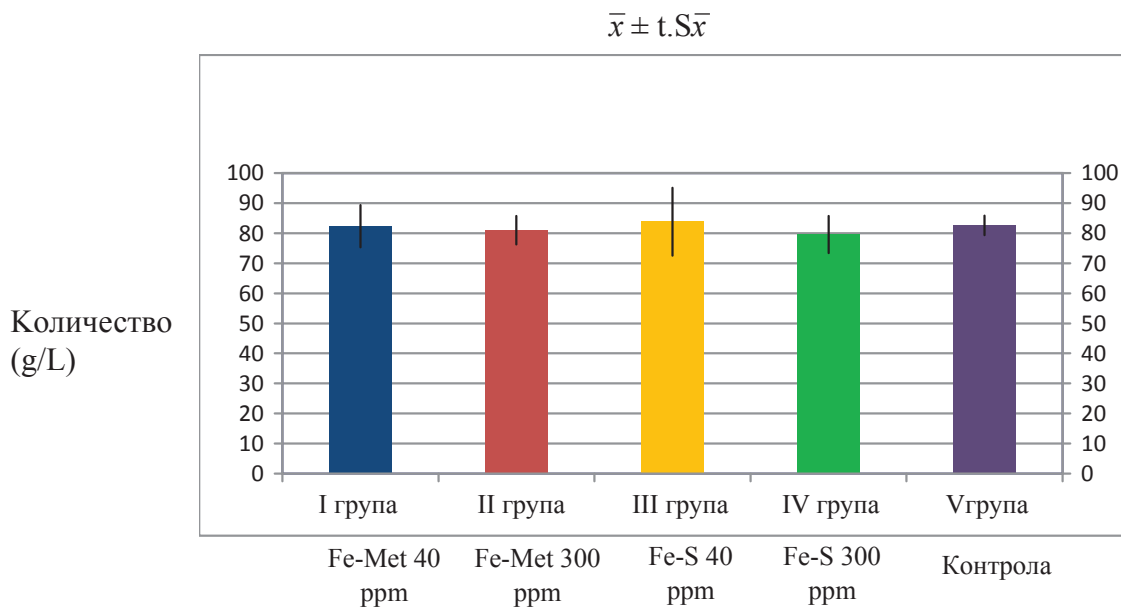
Групи Показатели Реф. стойности	0 -ден					17 ^{-ти} ден					35 ^{-ти} ден				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Total protein (33.0 – 60 g/l)	\bar{x} 30.456	35.970	34.630	34.256	31.200	37.2 u1;a2	37.3 u1;a2	35.0 u2;a1	34.0 u1	30.550	36.26 u2;a2	37.04 u1;a2	32.36	30.91	28.95
Albumin (13-30 g/l)	S \bar{x} 2.536	0.963	1.157	1.135	1.725	1.914	1.947	1.200	0.630	0.865	2.071	1.431	1.555	1.335	1.974
Glucose (10.0-16.6 mmol/l)	\bar{x} 11.8	11.4	12.4	12.3	12.8	10.5	10.8	11.0	11.2	11.3	10.6	10.7	11.0	10.7	10.8
Urea (<3.0 mmol/l)	S \bar{x} 0.332	0.236	0.192	0.140	0.371	0.707	0.419	0.515	0.152	0.402	0.427	0.551	0.518	0.344	0.433
ASAT (<245 UI/l)	\bar{x} 309	228	286	230	281	281	278	225	268	278	275	288	276	269	292
S	S \bar{x} 15.351	22.202	11.938	14.598	39.217	7.515	5.581	21.240	9.4	7.262	16.7	8.885	11.025	8.274	6.953
ALAT (<50 UI/l)	\bar{x} 13.23	12.0	13.2	14.4	14.256	9.16	18.7	10.9 ^{u2}	9.38	9.25	9.81	11.84 ^{u1}	9.81	10.0	8.82
S	S \bar{x} 1.216	0.637	1.242	2.817	2.160	0.887	8.486	0.452	0.799	0.235	0.490	0.537	0.613	0.508	0.485

I – Fe-met 40 ppm; II – Fe-met 300 ppm; III – Fe-S 40 ppm; IV – Fe-S 300 ppm; V – контролна

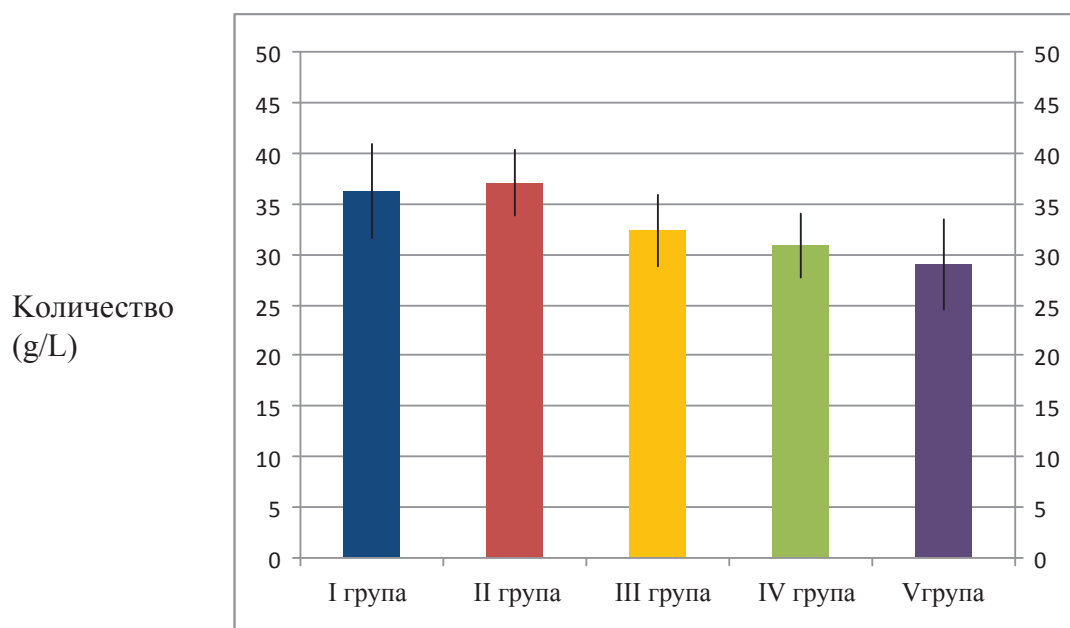
Статистически значима разлика спрямо контролната група, изчислена по непараметричния метод Mann-Whitney U-test: u_1 – при $P < 0.05$;

u_2 - при $P < 0.01$.

Статистически значима разлика спрямо контролната група, изчислена по параметричния метод one-way ANOVA: a_1 – при $P < 0.05$; a_2 - при $P < 0.01$; a_3 - при $P < 0.001$.



Фиг. 2. Субхронична токсичност - хемоглобин, 35-ти ден
 Fig. 2. Subchronic toxicity - hemoglobin, 35th day



Фиг. 3. Субхронична токсичност - общ протеин, 35-ти ден
 Fig. 3. Subchronic toxicity - total protein, 35th day

вания на кръвен серум са представени в табл. 3, а за общия белтък и на фиг. 3. От проследените биохимични показатели значими промени се наблюдават само при общия белтък. През 35-дневния период на изследване нивото му се увеличава при опитните пилета и намалява при контролните пилета (изходни стой-

ности 31.20 g/l и крайни 28.95 g/l). Макар и в рамките на референтните стойности най-значими са нивата на общия белтък при пилетата, получавали железен метионат, като разликите са достоверни спрямо пилетата от контролната група.

Патоморфологичните изследвания не показва промени за токсични увреждания. **Макроскопски** всички органи бяха с непроменени размери, форма, цвят и консистенция. При **хистологичните** изследвания не се откриха патологични промени в структурата на органите от птиците, третирани с различни дози от използваните железни съединения. Лимфодните органи – тимус, слезка и бурза фабриций, показва непроменена микроструктура. Хистологично не се констатираха промени в ендокарда, миокарда или епикарда на сърцето. Паренхимът на черния дроб и бъбреците беше запазен в морфологично отношение.

Резултатите от еднократното интраингувиално въвеждане при опитните пилета-бройлери на обсъжданите продукти показва, че те са ниско токсични. LD₀₅ за железния метионат е 2000 mg/kg м., а за железния сулфат 1500 mg/kg м. Ниска остра токсичност за железния метионат е установил **М. Петричев** (2006) при опити с бели мишки. За ниска токсичност на железни продукти при пилета-бройлери съобщават и други автори (**Southern and Baker**, 1982; **McGhee et al.**, 1965). Съществуващата разлика, включително по отношение на LD₀ (1500 mg/kg за Fe-met. и 1000 mg/kg м. за Fe-S) би могла да се обясни с различния механизъм на резорбция от двата продукта. Според **Close** (1999) неорганичните соли на желязото се разграждат в храносмилателния тракт и се резорбират под формата на свободни йони, които са с повишена активност и могат да образуват комплекси с други молекули, които могат да проявят токсичност. Хелатите и протеинатите на желязото се резорбират като цяла молекула с помощта на органичния си носител. Острата токсичност на сравняваните продукти зависи и от възможностите за тяхната екскреция през бъбреците. Известно е, че йонизираните съединения се екскретират по-лесно и при високи дози могат да доведат до увреждане на бъбречните каналчета. При високите дози се претоварват трансферинът и капацитетът на черния дроб, свободното несвързано желязо също би могло да допринесе за проява на токсичност (**Vahl et al.**, 1987). Токсичността на

продуктите зависи и от редица други фактори, които не са от съществено значение за настоящото обсъждане.

Проведените сравнителни изследвания относно субхраничната 35-дневна токсичност на железния метионат и железния сулфат потвърждават известното в научната литература, че източниците на желязо във фуражите на пилетата рядко довеждат до странични ефекти и то при значително повишаване на концентрацията им. Статусът на желязо в организма на животните най-точно се представя с концентрацията на хемоглобина в кръвта (**Davis et al.**, 1968). Според същите автори хемоглобинът и хематокритът при пилетата се поддържат в оптимални граници, когато желязото е 77-80 ppm; синтезът на хемоглобин е по-интензивен през първите 2 седмици от третирането, което бе потвърдено и от нас. Според **Vahl et al.** (1987) царевично-соевата диета осигурява пилетата с 30% повече желязо от необходимото за поддържане на хемоглобина им. Този феномен се потвърждава и при нашите изследвания – нивото на хемоглобина при контролните пилета бе равностойно на нивата при опитните пилета. Изяснено е също, че дихателните ензими (цитохроми, каталазна система и др.) имат приоритет пред хемоглобиновата синтеза (**Карелин**, 1973; **Радев и сътр.**, 1962; **Close**, 1999). Известно е, че при пилетата-бройлери желязото е от значение и за продуктивното им развитие. **Vahl et al.** (1987) установява, че при царевично-соевата диета, съдържаща 107 ppm Fe, теглото на пилетата нараства с добавката до 60 ppm Fe и намалява в сравнение с контролните пилета едва при концентрация 1620 ppm. Авторите приемат, че добавката от 80 ppm Fe в храната на пилетата-бройлери е недостатъчна да осигури максимален растеж. При нашите субхронични изследвания бе наблюдавано, че добавката на желязо от обсъжданите продукти до 300 ppm повлиява благоприятно теглото, броя на левкоцитите и общия белтък, което обясняваме с подобряване на окислителните процеси в организма с помощта на желязосъдържащите ензими. В това отношение железният метионат има по-положителен

ефект, в сравнение с железния сулфат, което е в съответствие с факта, че органичните (хелатни) микроминерали повлияват по-добре биологичната активност на организма, метаболизма на животните и тяхната продуктивност (Close, 1999). В потвърждение на това становище са и наши резултати от проведените изследвания относно фармакокинетиката и утилизацията на железния метионат и железния сулфат (Арнаудова-Мейти, 2013; Arnaudova-Matey, 2013). Обобщението е, че изследваните продукти са безопасни и с добра поносимост от пилета-бройлери в дози до 8 пъти (300 ppm) над ED₅₀

ИЗВОДИ

Железният сулфат (хептахидрат) и железният метионат при еднократно интраингувизално въвеждане на пилета-бройлери проявяват добра поносимост (LD₀ 1000 mg/kg м. срещу е 1500 mg/kg м.) и ниска токсичност (LD₀₅ 1500 mg/kg м. срещу 2000 mg/kg м.).

Железният сулфат и железният метионат при 35-дневно добавяне в храната на пилетата бройлери, в концентрации 40 ppm и 300 ppm не довеждат до нежелани странични ефекти, изразени в клинична симптоматика или патоморфологични промени във вътрешните органи.

При хранене на пилетата с царевично-соева смеска, в продължение на 35 дни с добавяне на железен метионат или железен сулфат в концентрации 40 ppm и 300 ppm не се наблюдава съществена разлика в нивата на хемоглобин в кръвта, свързани с източника на желязо, с дозировката или с контролните пилета. Наблюдават се обаче разлики в продуктивното действие на сравняваните продукти и контролните пилета (тегло, брой левкоцити, общ белтък), в полза на железния метионат, обяснено с по-добра биоактивност.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арнаудова-Мейти, А., Д. Димитрова, П. Дилов, Т. Мехмедов, Т. Тодоров, Д. Кушвалиева, Д. Николова, В. Дилова, 2013. Фармакокинетика на железен метионат и железен

сулфат при пилета-бройлери. Ветеринарна сбирка, 4-5, 48-51.

2. Беленький, М. Л., 1963. Элемент, количественной оценки фармакологического эффекта. Государственное издательство медицинской литературы. Ленинград, 21-32.

3. Каракашев, А. Б., Х. Пандев, 1970. Клинична лаборатория. Медицина и физкултура, С., с. 443.

4. Карелин, А. И., Б. М. Емельнов, 1977. Анемия поросят и её профилактика. (Обзор). ВНИИТХИСХ, М., с. 54.

5. Маринов, Б., 2011. Съвременни аспекти за оценка на хранителната стойност на суровините за комбинирани фуражи. Фуражи и хранене, 11, (37), 8-24.

6. Петричев, М., 2006. Изследване токсичността, бионаличността и антианемичния ефект на фуражната добавка железен комплекс на метионина при лабораторни животни и прасета. Докторска дисертация, ЛТУ – София.

7. Радев, Т., Хр. Лалов, Ат. Савов, Ст. Антонов, А. Букурещлиев, Р. Цекова, А. Димитров, 1962. Изв. НИИНБЗ, 2, 5-20.

8. Сурджийска, С., 1996. Норми за хранене на пилета-бройлери, 54 p.

9. Arnaudova-Matey, A., T. Yankovska, Tsv. Kirilova, K. Todorova, T. Mehmedov, S. Ivanova, P. Dilov, G. Angelov, 2013. Utilization of iron metionate in broiler chickens compared to iron sulphate. Bulg. J. Agric. Science, 19, (4), 854-859.

10. Bao, U. M., M. Chakt, A. Tji, K. Brerton, 2007. Effect of organically complexed copper, iron, manganese and zinc on broiler performance, Mineral excretion and accumulation in tissues. J. Appl. Poult. Res. Fall., 16, №3.

11. Close, W. H., 1999. Proceedings (Altech) Biotechnology in the feed industry. Sofia. 26-35.

11a. Cao, J., X. G. Luo, P. K. Henry, C. B. Ammerman, R. C. Little, R. D. Meles, 1996. Effect of dietary iron concentration, age and length of iron feeding on feed intake and tissue iron concentration of broiler chicks for use as a bioassay of supplemental iron sources. Poultry sciens, 75, (4), 495-504.

12. Elvehjem, C. A., E. V. Hart, 1929. The relation of iron and copper to hemoglobin synthesis in the chick. J. Biol. Chem., 81, №3, 131-141.

13. Elvehjem, C. A., E. B. Hart, W. C. Sherman, 1933. The availability of iron from different sources for hemoglobin formation. J. Biol. Chem. 103, №1, 63-67.
14. Hill, C. H., G. Matrone, 1961. Studies on copper and iron deficiencies in growing chickens. J. Nutr., 73, 425-431.
15. Lyons, T. P., 2006. It is time use new Technologies. Tenth scientific workshop (Altech) in Bulgaria, 6-18.
16. McGhee, F., C. R. Creger, J. R. Couch, 1965. Copper and iron toxicity. Poultry science, 44, 310-312.
17. NRC, 1994. Nutrient requirements of poultry, 19-34. National Academy press. Washington, J. C.
18. Sauthern, L. L., D. H. Baker, 1982. Iron status of the chick as affected by Eimeria acervulina infection and by variable iron ingestion. J. Nutr., 112, 2353-2362.
19. Vahl, Th. Van., T. Klooster, 1987. Dietary iron broiler performans. Br. Poultry science, 28, 567-576.

TOLERABILITY AND SUBCHRONIC TOXICITY
OF IRON METHIONATE IN BROILER CHICKENS COMPARED
TO FERROUS SULPHATE

A. Arnaudova-Matey, T. Todorov, K. Todorova, D. Dimitrova**, T. Mehmedov,
Z. Shindarska, S. Ivanova***, G. Angelov, P. Dilov*

University of Forestry, Faculty of Veterinary Medicine - Sofia

**Institute of Experimental Morphology and Anthropology with Museum – Bulgarian Academy of Sciences - Sofia*

***Thrakia University, Faculty of Veterinary Medicine - Stara Zagora*

****National Diagnostic and Research Veterinary Medical Institute - Sofia*

SUMMARY

Bulgarian iron methionate (Fe-met.) containing 13.3% iron was studied in comparison to ferrous sulphate (Fe-S) (heptahydrate) containing 20% iron. 40 broiler chickens aged 20 days and another 55 chickens aged 10 days of both genders equally divided, four linear hybrid ROSS-IKOV, were involved in the study. The basic feed used for all chickens during the tests was a blend of grain and soya which contained 2,717.23 kcal/kg metabolizable energy, 21.33% crude protein, 119 ± 5 ppm Fe and vitamin and mineral blend without iron. In the 20 day-old chickens the comparable products were applied intraintravascularly. The following results were achieved: LD₀ for Fe-met.- 1.500 mg/kg and for Fe-S – 1,000 mg/kg; LD₀₅ for Fe-met.- 2.000 mg/kg and for Fe-S – 1.500 mg/kg. The two products had low acute toxicity. The chickens aged 10 days were included in 35-day subchronic toxicity study. 40 ppm and 300 ppm Fe-met. and Fe-S were added to their food. During the study no chickens got ill or had any manifestations of adverse side effects and pathomorphological changes. No changes in the haemoglobin level associated with the source of iron or control chickens were observed. However, we found differences in the effect of the products in question and in the control chickens (weight, number of leukocytes, total protein) in favour of the iron methionate, which were probably due to the better bioactivity.

Key words: *iron methionate, ferrous sulphate, tolerability, toxicity, broiler chickens*