Wpływ stosowania jodoforowo-krzemianowego preparatu dezynfekcyjno-absorbującego na wyniki testów czynnościowych wątroby, strukturę jelita cienkiego oraz parametry kości szczura

SIEMOWIT MUSZYŃSKI, PIOTR DOBROWOLSKI*, YULIA IVASHKIV**, HALYNA RUDYK**, OKSANA BREZVYN**, IHOR KOTSYUMBAS**, WALDEMAR PASZKIEWICZ***

Katedra Biofizyki, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Akademicka 13, 20-950 Lublin

*Zakład Anatomii Porównawczej i Antropologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Akademicka 15, 20-033 Lublin

**Państwowy Naukowo-Badawczy Instytut Preparatów Weterynaryjnych i Dodatków Paszowych we Lwowie (SCIVP), Donicka 13, 79019 Lwów, Ukraina

***Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Akademicka 12, 20-950 Lublin

Otrzymano 20.05.2019

Zaakceptowano 04.07.2019

Muszyński S., Dobrowolski P., Ivashkiv Y., Rudyk H., Brezvin O., Kotsyumbas I., Paszkiewicz W.

Effect of an iodophor-silicate disinfecting and cleaning agent on liver function tests, the structure of the small intestine, and bone parameters in a rat model study

Summary

The aim of the study was to assess the risk of using an iodophor disinfecting and cleaning agent based on clinoptilolite intended for dry disinfection in the presence of non-ruminants. In a rat model study, a suspension containing 103.3 mg/kg b. w. of the disinfectant (a dose of 0.1 of LD₅₀) was administered per os for a period of 21 days. Its toxicity was assessed on the basis of liver function tests. The effects of the disinfectant on the histological parameters of the duodenum and jejunum and on the properties of long bones were determined. Although the agent showed no toxicity, at the end of the experiment the experimental animals had lower body weights than the control group animals ($P < 0.01$). The disinfectant exerted an adverse effect on the histological parameters of the jejunum, reducing the length of the intestinal villi ($P < 0.01$) and the absorption area ($P < 0.05$) and increasing the crypt depth ($P < 0.05$). On the other hand, the presence of clinoptilolite positively influenced the parameters of long bones, increasing their mass ($P < 0.001$), length ($P < 0.001$), density ($P < 0.01$), and ash content ($P < 0.01$). In the bone metaphysis and epiphysis root, a significant increase was found in the trabecular bone volume ($P < 0.001$) and the trabecular number ($P < 0.05$). Bone fracture strength was also increased ($P < 0.05$) in the experimental animals. The results obtained show that iodophores and clinoptilolite can be used in veterinary practice as components of low-toxic disinfecting and absorbing agents. However, the reduced body mass of the experimental animals suggests the need for further comprehensive tests aimed at determining the amount of the iodophor disinfecting and cleaning agent that does not impair performance parameters.

Keywords: iodophors, clinoptilolite, rat model, intestine, bones, toxicity

Intensywny chów zwierząt wymaga przestrzegania rygorów sanitarnych dotyczących warunków utrzymania zwierząt. Jednym z ważnych elementów służących realizacji tego zadania są procesy dezynfekcji, które służą eliminacji mikroorganizmów w pomieszczeniach inwentarskich, a tym samym są działaniem ochronnym w zakresie zdrowia zwierząt. Warunkiem stosowania środków dezynfekcyjnych jest brak szkodliwego ich oddziaływania na zwierzęta. Istnieją dwa systemy

stosowania dezynfektantów. Pierwszy dotyczy sytuacji kryzysowych, np. likwidacji chorego stada i ma na celu szybkie i skuteczne oczyszczenie miejsca przebywania chorych zwierząt. Ze względu na nieobecność zwierząt środki dezynfekcyjne mogą być wtedy stosowane w dużych ilościach i wysokich stężeniach, a po ich użyciu wyznaczany jest jeszcze okres karencji. Drugi system dotyczy prewencyjnego używania dezynfektantów w codziennej praktyce hodowlanej i ma na

celu uniemożliwienie powstania tzw. biofilmu (4, 24). Dezynfekcji powinny podlegać m.in. powierzchnie pomieszczeń, również w przypadku, gdy w pomieszczeniu przebywają zwierzęta. W zależności od rodzaju podłoża, można stosować środki dezynfekujące płynne lub suche. Niezależnie od postaci użytego środka może dochodzić do przypadków jego spożycia przez zwierzęta, dlatego oprócz określenia spektrum aktywności środka dezynfekującego możliwość jego zastosowania wymaga uwzględnienia jego wpływu na zdrowie narażonych na jego działanie zwierząt i ludzi (5). Preparaty zawierające jodofory, czyli związki kompleksowe jodu z substancjami powierzchniowo czynnymi, wykazują szybkie i skuteczne działanie przeciw wielu wirusom i bakteriom, jednak w celu skutecznego działania przeciwgrzybiczego oraz unieczynnającego przetrwalniki wymagają dłuższego kontaktu z odkażanymi powierzchniami (4). Generalnie preparaty te charakteryzują się niską toksycznością w stosunku do zwierząt, nie prowadzą do podrażnień skóry, błon śluzowych i oczu (16) ani zmian w narządach układu odpornościowego (39). Nowoczesne preparaty dezynfekcyjne, zwłaszcza stosowane na powierzchnie i przy pełnej obsadzie zwierząt, oprócz właściwości dezynfekcyjnych posiadają również działanie myjące lub absorbujące. Powszechnie stosowanymi absorbentami w produkcji zwierząt są krzemiany (wollastonit, montmorylonit, klinoptylolit) lub zawierające je glinki (bentonit, kaolin). Charakteryzują się nie tylko dużymi zdolnościami sorpcyjnymi względem metali ciężkich (12), ale dzięki właściwościom dezodoryzującym są również wykorzystywane w celu hamowania uwalniania amoniaku i innych gazów (2, 8). Stosowane jako dodatki paszowe, m.in. jako źródła minerałów (3) lub sorbenty neutralizujące działanie mikotoksyn (18, 23, 30), mogą wpływać na rozwój kości (7, 11, 30). Bez względu na użyte dodatki i postać preparatu ważne jest, aby jego obecność nie wpływała negatywnie na dobrostan zwierząt, np. poprzez powodowanie podrażnień lub zmniejszenie apetytu.

Celem badań było określenie oddziaływania jodoforowo-krzemianowego preparatu dezynfekcyjno-absorbującego na zwierzęta monogastryczne z wykorzystaniem modelu zwierzęcego (szczura). Ocenę bezpieczeństwa stosowania preparatu przeprowadzono na podstawie wyników prób wątrobowych oraz oceny zmian parametrów histomorfometrycznych struktur jelita cienkiego. Określono również wpływ obecnych w preparacie krzemianów na strukturę i parametry mechaniczne kości.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w Państwowym Naukowo-Badawczym Instytucie Preparatów Weterynaryjnych i Dodatków Paszowych we Lwowie (Ukraina). Na przeprowadzanie doświadczenia, którego przebieg był zgodny z dyrektywą 2010/63/UE Parlamentu Europejskiego

i Rady w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej (3475-Admin/08 z dn. 29.08.2017 r.). Do badań wykorzystano środek dezynfekcyjny w postaci proszku (mieszanina 3: 1 klinoptylolitu i krzemianu sodu) zawierający w swoim składzie jodoform (0,20%) oraz substancje pomocnicze (sole miedzi, cynku i żelaza oraz kompleks środków powierzchniowo czynnych i regulatorów pH). Doświadczenie główne poprzedzono badaniami toksykologicznymi, podczas których ustalono dawkę LD_{50} badanego środka dezynfekującego dla szczura ($LD_{50} = 1033$ mg/kg masy ciała) (16), co zgodnie z klasyfikacją chemikaliów ze względu na stopień zagrożenia substancjami chemicznymi kwalifikuje go do IV klasy toksyczności (niska toksyczność substancji) (26). Badaniami objęto 12 osobników męskich szczurów szczepu Wistar w wieku 18 miesięcy. Zwierzęta o początkowej masie ciała 190 ± 10 g podzielono losowo na dwie grupy: kontrolną (K, $n = 6$), w której nie stosowano środka dezynfekującego oraz grupę doświadczalną (D, $n = 6$), w której szczury otrzymywały 0,1 dawki LD_{50} środka dezynfekcyjnego, zgodnie z wymogami przeprowadzania przedklinicznych testów środków i preparatów weterynaryjnych (15). Przez cały okres doświadczenia szczury z obu grup utrzymywane były pojedynczo w odrębnych klatkach w warunkach standardowych (temp. $22 \pm 2^\circ C$, wilgotność ok. 55%, cykl dobowy 12/12 godz.). Zwierzęta były karmione standardowym granulatem przeznaczonym dla dorosłych szczurów i miały nieograniczony dostęp do wody. Środek dezynfekujący przyrządzano w postaci zawiesiny w 0,5 ml 1,5% roztworu skrobi i podawano *per os* 1 raz dziennie w dawce 103,3 mg/kg m.c., podczas gdy zwierzęta z grupy kontrolnej otrzymywały *per os* równoważną ilość 1,5% roztworu skrobi. Zawiesinę przygotowywano codziennie na podstawie wyznaczonych co 7 dni masy ciała szczurów.

Doświadczenie trwało 21 dni. Po tym okresie zwierzęta z obu grup pozbawiono przytomności w atmosferze CO_2 , a następnie uśmiercono przez dekapitację. W celu określenia toksyczności preparatu wykonano testy czynnościowe wątroby (próby wątrobowe), oznaczając w osoczu aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) oraz fosfatazy alkalicznej (ALP). Kości udowe wyizolowano bezpośrednio po uśmierceniu zwierząt. Parametry osteometryczne kości określono na podstawie pomiarów masy, długości oraz parametrów geometrycznych trzonu: pola przekroju poprzecznego i wskaźnika korowo-trzonowego (32). Fragmenty dalszej części kości udowej utrwalono w formalinie, odwapniono w roztworze EDTA, a na koniec zatopiono w blockach parafinowych. Przygotowane preparaty histologiczne wybarwiono metodą trójkolorową według Massona-Goldnera w celu oceny mikroarchitektury kości beleczkowej (29). Analizę histomorfometryczną wykonano na podstawie zarejestrowanych obrazów mikroskopowych przy użyciu programu do analizy graficznej obrazów ImageJ (National Institute of Health, USA). Określono rzeczywistą objętość kości beleczkowej (BV/TV), grubość beleczki kostnej (Tb.Th) oraz liczbę beleczek (Tb.N) w nasadzie i przynasadzie (28). Ocenę wytrzymałości mechanicznej kości przeprowadzono za pomocą trójpunktowego testu zginania na uniwersalnej maszynie wytrzymałościowej (Zwick-Roell

GmbH & Co., Niemcy). Na podstawie zarejestrowanych krzywych siła-wychylenie oraz zmierzonych parametrów osteometrycznych określono krańcowe wartości siły, naprężenia i odkształcenia sprężystego oraz wartości siły łamiącej i odpowiadających jej krańcowemu naprężeniu i odkształceniu kości (20). Stopień mineralizacji kości określono na podstawie densytometrycznych pomiarów gęstości mineralnej kości (BMD) metodą absorpcjometrii podwójnej energii promieniowania rentgenowskiego (Hologic, USA) oraz poprzez określenie zawartości popiołu po zmineralizowaniu kości w piecu muflowym w temperaturze 650°C. Z pobranych bezpośrednio po uśmierceniu szczurów, utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie wycinków dwunastnicy i jelita czczego wykonano preparaty histologiczne. Preparaty barwiono metodą trójkolorową według Massona-Goldnera w celu identyfikacji i analizy planimetrycznej kosmków i gruczołów jelitowych (14). Ocenę histomorfometryczną wykonano na podstawie zarejestrowanych obrazów mikroskopowych. Uzyskane zdjęcia analizowano za pomocą programu ImageJ. Zmierzono wymiary kosmków i gruczołów (krypt) jelitowych (odpowiednio: wysokość lub głębokość oraz szerokość), na podstawie których określono powierzchnię wchłaniania według metody opisanej przez Kisielinskiego i wsp. (13).

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy zastosowaniu testu t-Studenta, wyliczając średnie i odchylenia standardowe ($\bar{x} \pm s$). Jako poziom statystycznej istotności przyjęto wartość $P < 0,05$. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 13.0.

Wyniki i omówienie

Po trzytygodniowym okresie podawania badanego środka dezynfekcyjno-absorbującego stwierdzono

statystycznie istotne różnice w masie ciała szczurów. Szczury z grupy kontrolnej wykazywały większą masę ciała ($209,2 \pm 3,2$ g) w porównaniu ze szczurami z grupy doświadczalnej ($200,4 \pm 4,2$ g, $P < 0,01$). Różnica ta może być związana z obserwowanymi zmianami w strukturach błony śluzowej jelit. Wykonane analizy histologiczne odcinków jelita cienkiego wykazały u szczurów z grupy doświadczalnej istotne zmiany morfologiczne zarówno w strukturze błony śluzowej dwunastnicy (poszerzenie kosmków jelitowych), jak i jelita czczego (spadek długości kosmków i powierzchni wchłaniania oraz wzrost głębokości gruczołów jelitowych) (ryc. 1). Do zmian struktury błony śluzowej może dochodzić w następstwie kontaktu błony śluzowej przewodu pokarmowego z toksyną lub z czynnym środkiem chemicznym (6), jednak ze względu na niskie stężenie jodoformu w preparacie (0,2%) obserwowane zmiany były raczej następstwem obecności klinoptylolitu (75% masy preparatu), który – tak jak wszystkie krzemiany – jest słabo rozpuszczalny w wodzie i nie jest wchłaniany w przewodzie pokarmowym. Przypuszcza się, że może on podrażniać błonę śluzową jelita, jak ma to miejsce w układzie oddechowym (1, 17). Powyższe potwierdzają doświadczenia przeprowadzone na kurczętach, w którym Wawrzyniak i wsp. (36) zaobserwowali skrócenie kosmków jelitowych w początkowym fragmencie jelita czczego, zmniejszenie ich grubości w środkowym i dystalnym fragmencie oraz powiększenie głębokości gruczołów w dwunastnicy i wszystkich fragmentach jelita czczego u ptaków żywionych paszą zawierającą klinoptylolit w ilości 2%.

Ryc. 1. Parametry struktury histologicznej błony śluzowej dwunastnicy i jelita czczego szczurów

Objaśnienia: K – grupa kontrolna; D – grupa doświadczalna; różnice statystycznie istotnie: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$

Jodofory nie posiadają negatywnych cech innych środków dezynfekujących zawierających duże ilości jodu, takich jak jodyna czy jodopowidon (betadine). W ostatnim czasie zasugerowano toksyczność jodopowidonu dla organizmów wodnych (34) i chociaż nie udało się ustalić LD_{50} , stwierdzono, że jego stała obecność w środowisku może prowadzić do zmian w skrzelach lub wątrobie karpia (10, 35). Jod obecny w jodowych środkach dezynfekcyjnych może przedostawać się również do żywności pochodzenia zwierzęcego, w tym mleka. Badania wykazały, że powodowany tą migracją wzrost poziomu jodu w żywności nie jest istotny statystycznie i nie przekracza dopuszczalnych limitów (9). EPA (United States Environmental Protection Agency) określiła toksyczność jodoforów dla ludzi i drobiu na bardzo

niską przy narażeniu na ekspozycję drogą doustną, skórą i wziewną (34). Przyjmuje się, że charakteryzujące się niską toksycznością jodofory i klinoptylolity nie mają negatywnego wpływu na funkcjonowanie wątroby (25, 34). W przeprowadzonym doświadczeniu stwierdzono jedynie istotne obniżenie aktywności aminotransferazy alaninowej w grupie doświadczalnej (ryc. 2), co potwierdza bezpieczeństwo stosowania badanego preparatu.

Zmiany w strukturze błony śluzowej jelit mogą prowadzić do zmian szeregu procesów metabolicznych całego organizmu, w tym poprzez oś jelitowo-kostną również w tkance kostnej (31). Przyjmuje się ponadto, że klinoptylolit mimo iż nie jest wchłaniany w przewodzie pokarmowym, uwalnia w jelitach jony wapnia, zwiększając ich dostępność biologiczną (19). Pozytywny wpływ klinoptylolitu na długość i mineralizację kości stwierdzono u brojlerów (11). Natomiast

Ryc. 2. Wartości wskaźników prób wątrobowych we krwi szczurów

Objaśnienia: ALT – aminotransferaza alaninowa; AspAT – aminotransferaza asparaginianowa; ALP – fosfataza alkaliczna; K – grupa kontrolna; D – grupa doświadczalna; różnice statystycznie istotne: ** $P < 0,01$

Ryc. 3. Parametry osteometryczne kości udowej szczurów

Objaśnienia: BMD – gęstość mineralna kości; K – grupa kontrolna; D – grupa doświadczalna; różnice statystycznie istotne: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

u niosek suplementowanych dodatkiem klinoptylolitu przez okres 16 tygodni nie stwierdzono zmian w gęstości, zawartości popiołu czy wytrzymałości mechanicznej kości, co związane jest zapewne z odmiennie przebiegającą gospodarką wapniową w organizmie niosek i brojlerów (3).

W niniejszych badaniach stwierdzono, że szczury z grupy doświadczalnej pomimo niższej masy ciała posiadały dłuższe, cięższe i bardziej zmineralizowane kości niż osobniki grupy kontrolnej (ryc. 3). Przełożyło się to na zwiększenie wytrzymałości kości na złamania podczas zginania oraz zmniejszenie odkształcenia, jakiemu poddawana była kość podczas odkształceń sprężystych (ryc. 4), co wskazuje na wzrost jej sztywności (21). Do pozytywnych zmian doszło również w obszarze dalszej nasady i przynasady kości udowej, gdzie zaobserwowano wzrost rzeczywistej objętości kości beleczkowej (BV/TV) oraz zwiększenie liczby

Ryc. 4. Parametry wytrzymałościowe kości udowej szczurów

Objaśnienia: K – grupa kontrolna; D – grupa doświadczalna; różnice statystycznie istotnie: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$

Ryc. 5. Parametry histomorfometryczne kości beleczkowej przynasady i nasady dalszej kości udowej szczurów

Objaśnienia: BV/TV – rzeczywista objętość kości beleczkowej; Tb.Th – grubość beleczki kostnej; Tb.N – liczba beleczek kostnych; K – grupa kontrolna; D – grupa doświadczalna; różnice statystycznie istotnie: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

beleczek (Tb.N) (ryc. 5). W obszarze przynasady doszło również do zwiększenia grubości beleczek kostnych (Tb.Th). Prawidłowa homeostaza tkanki

kostnej i funkcjonowanie aparatu ruchu są istotne w aspekcie dobrostanu zwierząt, który obejmuje również troskę o właściwe ukształtowanie kości, będące warunkiem prawidłowego poruszania się zwierząt. Pozytywny wpływ na ogólny wzrost kości i wzrost ilości tkanki kostnej w kości beleczkowej mogły mieć także obecne w badanym preparacie sole miedzi i cynku. Mikroelementy te są niezbędne w prawidłowym rozwoju, mineralizacji i utrzymaniu homeostazy tkanki kostnej, a ich obecność ma wpływ na wytrzymałość i sprężystość kości oraz aktywność osteoblastów (22, 27, 33).

Uzyskane wyniki wskazują na możliwość stosowania jodoformu i klinoptylolitu w praktyce weterynaryjnej jako składników kompleksowych preparatów dezynfekcyjno-absorbujących o niskiej toksyczności. Obserwowana niższa masa ciała zwierząt z grupy doświadczalnej wskazuje na potrzebę dalszych badań z wykorzystaniem kolejnych modeli zwierzęcych, których celem będzie określenie dopuszczalnej ilości preparatu w otoczeniu zwierząt, nie oddziałującej negatywnie na efekty produkcyjne.

Piśmiennictwo

1. Adams Z., Tatrai E., Honma K., Six E., Ungvary G.: In vitro and in vivo test for determination of the pathogenicity of quartz, diatomaceous earth, mordenite and clinoptilolite. Ann. Occup. Hyg. 2000, 44, 67-74.

2. Bernal M. P., Lopez-Real J. M.: Natural zeolite and sepiolite as ammonium and ammonia adsorbent materials. *Bioresource Technol.* 1993, 43, 27-23.
3. Berto D. A., Garcia E. A., Vercese F., Santos G. C. dos, Barreiro F. R., Molino A. de B., Pelicia K., Silveira A. F. da: Effects of dietary clinoptilolite and calcium levels on uric acid and calcium blood concentrations and bone quality of commercial layers. *Braz. J. Poult. Sci.* 2013, 15, 145-150.
4. Bruins G., Dyer J. A.: Environmental considerations of disinfectants used in agriculture. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 1995, 14, 81-94.
5. Campagna M. V., Faure-Kumar E., Treger J. A., Cushman J. D., Grogan T. R., Kasahara N., Lawson G. W.: Factors in the selection of surface disinfectants for use in a laboratory animal setting. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2016, 55, 175-188.
6. Choc M.: Managing gut health through nutrition. *Br. Poult. Sci.* 2009, 50, 9-15.
7. Demiraslan Y., Tufan T., Sari M., Akbulut Y., Dayan M. O., Kukurt A.: The effect of clinoptilolite on long bone morphometry in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Anim. Vet. Sci.* 2014, 2, 179-183.
8. Eleroglu H., Yalcin H.: Use of natural zeolite-supplemented litter increased broiler production. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 2005, 35, 90-97.
9. French E. A., Mukai M., Zurawski M., Rauch B., Gioia G., Hillebrandt J. R., Henderson M., Schukken Y. H., Hemling T. C.: Iodine residues in milk vary between iodine-based teat disinfectants. *J. Food Sci.* 2016, 81, T1864-T1870.
10. Hedayati A., Darabitarab F., Bagheri T., Hedayati E., Doan H. van: Histopathological impairment of common carp (*Cyprinus carpio*) induced through povidone-iodine exposure. *Microsc. Res. Tech.* 2018, 81, 1257-1260.
11. Kavan B. P., Shargh M. S., Hassani S., Mostafalo Y.: Comparison of the effects of clinoptilolite and sodium zeolite a on tibia bone mineralisation and calcium and phosphorus utilisation in broiler chicks. *Int. Res. J. Appl. Basic Sci.* 2013, 4, 3389-3395.
12. Khudhur H. B., Muszyński S., Szymańczyk S., Chalabis-Mazurek A., Kwasniewska A., Oniszczuk T., Kowal N., Ejteli M., Valverde Piedra J. L., Gładyszewska B.: Zastosowanie granulatu skrobi termoplastycznej napelnianej wollastonitem i bentonitem do adsorpcji metali ciężkich z roztworów wodnych. *Przem. Chem.* 2017, 96, 2256-2258.
13. Kisielinski K., Willis S., Prescher A., Klosterhalfen B., Schumpelick V.: A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. *Clin. Exp. Med.* 2002, 2, 131-135.
14. Klebaniuk R., Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwiecień M., Burmańczyk A., Yanovich D., Zasada Z., Szymańczyk S., Burmańczyk N., Muszyński S.: Chloramphenicol-induced alterations in the liver and small intestine epithelium in pigs. *Ann. Anim. Sci.* 2018, 18, 429-440.
15. Kotsymbas I. Y., Malik O. G., Paterega I. P., Tishin O. L., Kosenko Y. M.: Preclinical Studies of Veterinary Medicines. Triad plus, Lviv 2006, s. 300.
16. Kotsymbas I. Y., Ivashkiv Y. A., Rudyk H. V., Brezvin O. M.: Study of the toxicity of the disinfectant based on iodoform. *Nauk.-Teh. Bül. Derž. Nauk.-Dosl. Kontrol'n. Inst. Vet. Preparativ Korm. Dobav. Inst. Biol. Tvarin.* 2018, 19, 171-177.
17. Martin-Kleiner I., Flegar-Mestric Z., Zadro R., Breljak D., Stanovic J., Stojakovic R., Marusic M., Radcic M., Boranic M.: The effect of the zeolite clinoptilolite on serum chemistry and hematopoiesis in mice. *Food Chem. Toxicol.* 2001, 39, 717-727.
18. Mazzo R., Peralta M. F., Magnoli C., Salvano M., Ferrero S., Chiacchiera S. M., Carvalho E. C. Q., Rosa C. A. R., Dalcero A.: Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. *Poult. Sci.* 2005, 84, 1-8.
19. Mumpton F. A.: La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 3463-3470.
20. Muszyński S., Kwiecień M., Tomaszewska E., Świetlicka I., Dobrowolski P., Kasperek K., Jeżewska-Witkowska G.: Effect of caponization on performance and quality characteristics of long bones in Polbar chickens. *Poult. Sci.* 2017, 96, 491-500.
21. Muszyński S., Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwiecień M., Wiącek D., Świetlicka I., Skibińska M., Szymańska-Chargot M., Orzel J., Świetlicki M., Arczewska M., Szymanek M., Zhyla M., Rudyk H., Tomczyk-Warunek A.: Analysis of bone osteometry, mineralization, mechanical and histomorphometrical properties of tibiotarsus in broiler chickens demonstrates a influence of dietary chickpea seeds (*Cicer arietinum* L.) inclusion as a primary protein source. *PLoS One*, 2018, 13, e0208921.
22. Muszyński S., Tomaszewska E., Kwiecień M., Dobrowolski P., Tomczyk-Warunek A.: Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low-zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens. *PLoS One*, 2018, 13, e0191964.
23. Pasha T. N., Farooq M. U., Khattak F. M., Jabbar M. A., Khan A. D.: Effectiveness of sodium bentonite and two commercial products as aflatoxin absorbents in diets for broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2007, 132, 103-110.
24. Pawiak R., Wachnik Z.: Problemy dezynfekcji w chlewni. *Med. Weter.* 1976, 32, 202-204.
25. Safaeikatlouli M., Jafariahangari Y., Baharlouei A.: An evaluation on the effects of dietary kaolin and zeolite on broilers blood parameters, T4, TSH and growth hormones. *Pak. J. Nutr.* 2011, 10, 233-237.
26. Standard of Organization of Ukraine (SOU): 85.2-37-736:2011: Veterinary drugs. Determination of Acute Toxicity. Ministry of Agrarian Policy, Kiev 2011, s. 16.
27. Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A., Tomczyk A., Muszyński S.: The influence of dietary Cu-glycine complex on histomorphology of cancellous bone, articular cartilage and growth plate, bone mechanical and geometric parameters is dose-dependent. *Biol. Trace Elem. Res.* 2017, 178, 54-63.
28. Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A., Tomczyk A., Muszyński S., Gładyszewska B.: Dose-dependent influence of dietary Cu-glycine complex on bone and hyaline cartilage development in adolescent rats. *Ann. Anim. Sci.* 2017, 17, 1089-1105.
29. Tomaszewska E., Dobrowolski P., Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Tomczyk A., Muszyński S., Radzki R.: Alteration in bone geometric and mechanical properties, histomorphometrical parameters of trabecular bone, articular cartilage, and growth plate in adolescent rats after chronic co-exposure to cadmium and lead in the case of supplementation with green, black, red and white tea. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2016, 46, 36-44.
30. Tomaszewska E., Muszyński S., Dobrowolski P., Kostro K., Jakubczak A., Tazkun I., Żmuda A., Blicharski T., Kędzia P.: Bentonite diminishes DON-induced changes in bone development in mink dams. *J. Vet. Res.* 2016, 60, 349-355.
31. Tomaszewska E., Muszyński S., Dobrowolski P., Kwiecień M., Klebaniuk R., Szymańczyk S., Tomczyk-Warunek A., Kowalik S., Milczarek A., Świetlicka I.: The influence of dietary replacement of soybean meal with high-tannin faba beans on gut-bone axis and metabolic response in broiler chickens. *Ann. Anim. Sci.* 2018, 18, 801-824.
32. Tomaszewska E., Muszyński S., Ognik K., Dobrowolski P., Kwiecień M., Juśkiewicz J., Chocyk D., Świetlicki M., Blicharski T., Gładyszewska B.: Comparison of the effect of dietary copper nanoparticles with copper (II) salt on bone geometric and structural parameters as well as material characteristics in a rat model. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2017, 43, 103-110.
33. Tomaszewska E., Muszyński S., Dobrowolski P., Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Tomczyk-Warunek A., Ejteli M., Świetlicka I., Gładyszewska B.: White tea is more effective in preservation of bone loss in adult rats co-exposed to lead and cadmium compared to black, red or green tea. *Ann. Anim. Sci.* 2018, 18, 937-953.
34. United States Environmental Protection Agency (EPA): Reregistration Eligibility Decision for Iodine and Iodophor Complexes. EPA, Washington 2006, s. 70.
35. Vajargah M. F., Yalsuei A. M., Hedayati A.: Acute toxicity of povidone-iodine (Betadine) in common carp. *Pollution.* 2017, 3, 589-593.
36. Wawrzyniak A., Kapica M., Stepień-Pyśniak D., Szwerniak R., Olejarska A., Jarosz Ł.: Effect of feeding transcarpathian zeolite on gastrointestinal morphology and function in broiler chickens. *Braz. J. Poult. Sci.* 2017, 19, 737-746.
37. Yang P., Dong H., Quin G.: Oral toxicity of iodophor disinfectant on the immune organs of rats. *Occup. Health* 2007, 23, 264-265.

Adres autora: dr hab. n. wet. Siemowit Muszyński, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin; e-mail: siemowit.muszyński@up.lublin.pl