**УПРАВЛЕНИЕ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА**
**ГЛАВНОГО МЕДИЦИНСКОГО УПРАВЛЕНИЯ**
**при АДМИНИСТРАЦИИ ПРЕЗИДЕНТА РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**
1000047, г. Ташкент, ул. С. Азимова, 65 тел.: 71 233-48-48
**Удостоверение об аттестации РесЦГСЭН МЗ РУз от 20.03.2019 г. за № 150**
**Свидетельство об аккредитации № UZ.AMT.07.MAI.812**

**«УТВЕРЖДАЮ»**
И.о. начальника УСЭН
ГМУ при АП РУз
С.О. ГОЗИЕВ
«27» января 2022 г.

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ
# ПО ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ
# БАД К ПИЩЕ “АСТАКСИОН” И “СОМНИУМ”,
# ПРОИЗВОДСТВА ООО «HVARA»,
# УЗБЕКИСТАН

Ташкент – 2022 г.

ООО «HVARA» предоставило для токсикологической оценки безопасности, следующие биологически активные добавки к пище: «Астаксион» и «Сомниум».

В соответствии с требованиями приложения №1 Постановления Кабинета Министров РУз № 131 от 30 апреля 2016 г. «Об утверждении Положений о порядке прохождения разрешительных процедур в системе санитарно эпидемиологической службы Республики Узбекистан», все новые биологически активные добавки подлежат обязательной токсикологической оценке с целью определения их безопасности для здоровья населения при применении.

В данном заключении представлены результаты токсикологической оценки образцов БАД к пище: «Астаксион» и «Сомниум».

**1. Торговое название и характеристика БАД к пище:**

1.1. «Астаксион» капсулы

Состав 1 капсулы: активные компоненты – экстракт гематококка дождевого (Haematococcus pluvialis) 12мг, экстракт черники (Vaccinium myrtillus) 20 мг, экстракт ягод годжи (Lýcium bárbarum) 20мг; вспомогательные вещества – крахмал кукурузный 300 мг.

Область применения: в качестве биологически активной добавки как дополнительный источник нужных для организма биологически активных веществ при их недостаточном поступлении в организм с пищей.

Дозы применения: взрослым по 1 капсулы в день.

1.2. "Сомниум", жидкость во флаконах.

Состав 1 мл: активные вещества- экстракт валерианы (Valeriána officinális) 20 мг, мелатонин 4 мг, глицин 2 мг; вспомогательные вещества - калия сорбат, цикламат натрий, вода очищенная.

Область применения: в качестве биологически активной добавки для поддержания нервной системы и обеспечения нормального физиологического режима сна и бодрствования.

Способ применения: взрослым и детям с 14 лет по 10 капель 2 раза в день

**2. Исследования проведены** согласно официальному обращению ООО «HVARA» от 27.12.2021 г. за № 80 и письма Службы санитарно-эпидемиологического благополучия и общественного здоровья РУз от 28.12.2021 г. за № 31-8/8598, на основании заключенного договора на выполнение токсикологических исследований.

2.1. Оценка безопасности БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» включила следующий объем исследований:

- определение пероральной средне-смертельной дозы;
- определение кумулятивного (подострого) действия;
- изучение раздражающего действия на слизистые;
-изучение сенсибилизирующих свойств.

2.2. Объект исследований: БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум»

Заказчик: ООО «HVARA», Узбекистан.

2.3 Заключение по результатам исследований представляется заказчику.

2.4. Положение о соответствии

Во время проведения исследований не наблюдались чрезвычайные обстоятельства, которые могли бы отразиться на качестве и достоверности полученных результатов.

**2.4. Аккредитация**

Лаборатория для исследований аттестована Министерством здравоохранения Республики Узбекистан (Свидетельство № 150 от 20.03.2019г.).

Лаборатория аккредитована Центом по аккредитации (Свидетельство об аккредитации UZ.AMT.07.MAI.812 от 30.10.2019 г.)

Полученные результаты исследований и информация теста ошибок испытаний, отраженные в заключение, касаются только объектов исследования. Данная информация предоставляется только в пределах запроса и не может быть воспроизведена без письменного разрешения Заказчика исследования

**3. Формула дозы.** Токсикологическая оценка БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» –содержимое капсул смешивались с дистиллированной водой до состояния суспензии, а жидкость в нативном виде внутрижелудочно вводилось в предполагаемой токсической дозе лабораторным животным с последующим наблюдением в течение эксперимента для выявления клинических признаков интоксикации. Данное наблюдение предоставит информацию для оценки и классификации риска.

**4. Материалы и методы**

4.1. В данном заключении описываются исследования, проведенные в соответствии с нормативно-методической документацией:

ГОСТ 32644 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность - метод определения класса острой токсичности», МР № 012-3/0244 «Порядок и методология пред-

регистрационной токсиколого-гигиенической экспертизы пищевых добавок» и ГОСТ 32641 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Определение токсичности при повторном/многократном пероральном поступлении вещества на грызунах. 28-дневный тест».

Биохимические анализы крови проводили на анализаторе полуавтоматическом биохимическом «CYANSmart» с программным обеспечением (Cypress Diagnostics, Бельгия) по стандартным методикам (АСТ, АЛТ, ЩФ, общий белок- наборы реактивов Cypress Diagnostics, Бельгия), гематокрит определяли на гематокритной центрифуге (Cypress Diagnostics, Бельгия), Развернутый анализ периферической крови определяли в камере Горяева.

4.2 Система теста. Экспериментальные исследования проводили на мелких лабораторных животных (белых крысах и мышах, морских свинках) в соответствии с действующей нормативно-методической базой.

Экспериментальные испытания проведены с соблюдением правил, принятыми Европейской конвекцией по защите позвоночных животных для экспериментов или иных научных целей (ETS № 123. Стразбург, 18.03.1986 г.).

4.4. Испытание. Опытные животные получали одинаковую дозу в мг/кг на массу тела объекта исследований в пределах часов наблюдения (16-20 часов), контроль получал адекватную дозу дистиллированной воды. Кормление животных осуществляли через 3 часа после введения дозы.

4.5. Наблюдения. Смертность/паралич: ежедневно в течение акклиматизации и с 1го по последний день эксперимента, вес тела до приема препарата и по окончанию эксперимента.

Клинические признаки: ежедневно в течение акклиматизации и 4 раза (через 1,2,3 и 4 часа) после ввода дозы в первый день, далее, в зависимости от проявления клинических признаков токсичности, 1 раз ежедневно в течение всего периода наблюдения. Все отклонения фиксировались.

**5. Морфология**

Все выжившие животные были подвергнуты эвтаназии в конце исследования путем декапитации вслед за введением в эфирный наркоз и уничтожены после макро- и микроскопических морфологических исследований. Ни один орган или ткань не были использованы для других целей. Отработанный биоматериал утилизировался в службе отлова бродячих животных.

На основании сравнительного макро- и микроскопического исследования органов и тканей животных, подопытных и контрольной групп можно сделать

заключение о том, что внутрижелудочное введение исследуемых БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» - не вызывают патологических изменений и различий гистологического строения внутренних органов.

**6. Статистический анализ.** Полученные результаты подвергались статистической обработке с использованием стандартных программ с оценкой значимости показателей (M±m) и различий по t-критерию Стьюдента и методическим рекомендациям «Использование принципов доказательной медицины при организации и проведении гигиенических исследований» на базе Word 2010. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне значимости 95% ($p < 0,05$).

**7. Регистрация данных.** Масса тела, клинические признаки интоксикации, гематологические и биохимические показатели, смертность/паралич вводились в компьютерную систему ПТГЛ УСЭН ГМУ при АП РУз в течение испытаний.

**8. Результаты**

8.1. Смертность. За период проведения эксперимента смерти подопытных животных не наблюдалось.

8.2. Клинические признаки. Клинические признаки интоксикации за период проведения эксперимента отсутствовали.

8.3. Вес тела. Наблюдения за изменением массы тела крыс показали, что в течение всего эксперимента животные опытных групп прибавляли в массе и степень прироста массы тела экспериментальных животных достоверно не отличалась от веса животных контрольной группы.

**9.Сведения о токсичности**

*1. Острая токсичность*

В условиях эксперимента установление острой токсичности исследуемых БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» - проведено на 2-х видах лабораторных животных (белые беспородные крысы и мыши) при однократном внутрижелудочном поступлении каждого наименования препарата в дозах 2000, 3500 и 5000 мг/кг веса животных. За период проведения эксперимента смерти подопытных животных не наблюдалось. Максимальная введённая доза БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» в желудок лабораторным животным более чем в 8 раз превышала максимальную суточную дозу, рекомендуемую для человека. В последующие сутки наблюдения животные прибавляли в массе тела, сохраняли нормальную реакцию на внешние раздражители, общее состояние и пове-

дение животных в обеих опытных группах было удовлетворительно. Все животные были активны и охотно поедали корм, шерстяные покровы и видимые слизистые не изменялись. Гибели животных в течение всего периода наблюдения не отмечали. Таким образом, средняя летальная доза исследуемых БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» - для животных, взятых в эксперимент, не достигнута. Не установлено различий в чувствительности мышей и крыс к препарату в зависимости от вида и пола.

Таблица 1

Летальные эффекты БАД при в/ж введении
лабораторным животным обоего пола

| Наименование БАД | Доза мг/кг | кол-во животных в группе/ кол-во погибших животных | $LD_{50}$ |
|---|---|---|---|
| «Астаксион» | 2000 | 6/0 | не достигнута |
| | 3500 | 6/0 | |
| | 5000 | 6/0 | |
| «Сомниум» | 2000 | 6/0 | не достигнута |
| | 3500 | 6/0 | |
| | 5000 | 6/0 | |

Таким образом, БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» относятся к практически нетоксичным (V класс опасности по гигиенической классификации) и малоопасным (IV класс опасности по ГОСТ 12.1.007) препаратам.

*2. Действие на слизистые оболочки глаз.*

Проведена однократная инокуляция 0,05 мл исследуемых БАД к пище «Астаксион» (виде водной суспензии) и «Сомниум» (нативно) в конъюнктивальный мешок правого глаза морской свинки, левый служил контролем (в каждой группе по 3 животных). Под влиянием препаратов не отмечалось гиперемии, слезотечения или блефароспазма.

Следовательно, полученные данные исследований показали, что БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» - в концентрации использования не оказывает раздражающее воздействие на слизистую глаза.

*3. Кумулятивные свойства.*

Кумулятивная способность исследуемых БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» определялась по Лиму на белых крысах массой 130-150 г.

Исследуемые БАД к пище вводили внутрижелудочно в течение 28 дней. Исходная доза составляла рекомендуемую разовой с последующим увеличени-

ем каждые 4 дней в 1,5 раза, что составило превышение рекомендуемой разовой более чем в 4,5 раза. Контрольным животным вводили дистиллированную воду в эквивалентном объеме. За экспериментальными животными вели наблюдения в течение всего опыта по следующим показателям: выживаемость в течение эксперимента, общее состояние, активность животных, поедание корма, потребление воды, динамика массы тела (табл. 2), морфологический состав крови (табл. 3), биохимических показателей крови (табл.4).

У животных, взятых в эксперимент, в течение всего времени наблюдения не отмечено каких-либо отклонений в поведении. Аналогично контрольным животным, они были активны, опрятны, хорошо поедали корм и адекватно реагировали на внешние раздражители. Признаков интоксикации и летальных исходов не отмечено.

Таблица 2

Динамика массы тела крыс (в % к исходной)

| Периоды наблюдения | Группа животных | | |
|---|---|---|---|
| | контроль, дистиллированная вода | «Астаксион» | «Сомниум» |
| до введения | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| по окончанию | 131,0 | 134,4 | 133,0 |

Для испытания животные были разделены на группы одинаковой исходной массой. Наблюдения за изменением массы тела крыс показали одинаковое прибавление в массе, при этом степень прироста масс тела не отличалась у опытных групп по сравнению с контролем.

Таблица 3

Усредненные показатели морфологического состава крови крыс при субхроническом воздействия изучаемых БАД к пище

| Группы | период наблюдения | Гематологические показатели | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | гематокрит, % | концентрация гемоглобина, г/л | тромбокрит, % | лейкоциты, $\cdot 10^9$/л | эритроциты, $\cdot 10^{12}$/л |
| Контроль, интактный | до введения | 33,8±1,2 | 131,8±4,2 | 0,459±0,04 | 14,65±0,53 | 6,67±0,13 |
| | по окончанию | 34,9±0,5 | 142,4±2,4 | 0,450±0,02 | 14,58±0,59 | 6,62±0,25 |
| «Астаксион» | до введения | 36,6±1,1 | 136,8±2,3 | 0,438±0,05 | 14,61±0,39 | 6,80±0,18 |
| | по окончанию | 37,5±1,6 | 137,6±5,3 | 0,467±0,04 | 14,57±0,60 | 6,67±0,15 |
| «Сомниум» | до введения | 32,9±0,6 | 133,9±3,8 | 0,450±0,02 | 14,52±0,42 | 6,45±0,20 |
| | по окончанию | 33,5±1,1 | 141,4±2,3 | 0,438±0,05 | 14,55±0,41 | 6,42±0,18 |

При исследовании гематологических показателей периферической крови подопытных животных, не выявило достоверных изменений ни по одному из исследованных параметров. Гематокрит, содержания гемоглобина, тромбокрит, содержание лейкоцитов и эритроцитов у всех подопытных животных статистически значимо не отличались от контроля.

Как показали результаты изучения биохимических показателей сыворотки крови опытных и контрольных животных активность трансаминазных ферментов (АсТ,АлТ) и щелочной фосфатазы (ALP) экспериментальных животных достоверно не отличались от значений таковых у контрольной группы. Показатели содержания общего белка (TP) контрольной и опытных групп были достоверно одинаковы.

Таблица 4.

Биохимические показатели крови белых крыс
при субхроническом воздействия изучаемых БАД к пище

| Группы | Статист. показатели | период наблюдения, неделя | Биохимические показатели | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | АлТ, Е/л | АсТ, Е/л | ALP, Е/л | TP,г/л |
| Контроль, дистиллирована вода | M±m | 1 | 50,2±3,7 | 114,4±5,17 | 34,8±5,6 | 65,0±0,5 |
| | | 4 | 54,2±2,5 | 116,0±5,26 | 36,2±7,5 | 66,2±0,7 |
| «Астаксион» | M±m | 1 | 56,1±3,1, | 114,8±5,4 | 33,4±4,9 | 66,1±0,3 |
| | | 4 | 52,0±3,7 | 119,8±3,6 | 34,8±1,6 | 62,2±2,3 |
| «Сомниум» | M±m | 1 | 58,8±2,4 | 120,1±4,7 | 33,8±1,2 | 64,4±2,9 |
| | | 4 | 57,7±2,4 | 114,7±2,78 | 39,5±4,1 | 68,1±2,1 |

Патоморфологические исследования проводились на следующий день после последнего введения. По результатам макроскопического исследования изучаемых органов различий между опытными и контрольной группами не установлено: грудная и брюшная полости выпота не содержали. Положение внутренних органов грудной и брюшной полостей нарушений не представляло.

Микроскопические патологоанатомические исследования показали, что испытанные БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» не вызывали токсических дегенеративных изменений лимфоидных и важнейших внутренних органов:

- щитовидная железа красноватого цвета, обычной величины и формы, умеренно плотной консистенции. Тимус треугольной формы, беловатого цвета, умеренно плотной консистенции, обычных размеров.

- интима аорты гладкая, блестящая, беловатого цвета. Диаметр аорты не изменен. Листки перикарда тонкие, прозрачные, гладкие. Величина и форма сердца изменений не представляют. Левый желудочек сокращен, в правом со-

держится незначительное количество темной жидкой крови. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Мышца сердца на разрезе однородной коричневатой окраски, умеренно плотная.

- просвет трахеи и крупных бронхов не изменен, слизистая оболочка блестящая, гладкая, бледного цвета. Легкие воздушные, без уплотнений на ощупь, бледно-розовой окраски.

- слизистая пищевода блестящая, гладкая, бледного цвета. Желудок обычной величины и формы, заполнен пищевым содержимым. Слизистая оболочка безжелезистой части желудка складчатая, розоватая, блестящая. Слизистая тела желудка складчатая, розоватая, блестящая. Слизистая оболочка тонкого кишечника бледно-розового цвета, блестящая, гладкая. Слизистая оболочка толстой кишки сероватого цвета, блестящая, гладкая.

- форма и величина печени изменений не представляли. Поверхность печени гладкая, однородной темно-красной окраски, капсула тонкая, прозрачная. Ткань печени на разрезе полнокровная, умеренно плотная.

- поджелудочная железа плоской формы, бледно-розового цвета, дольчатая, умеренно плотной консистенции.

- селезенка обычной формы, темно-вишневого цвета, умеренно плотной консистенции. Поверхность органа гладкая, капсула тонкая. На разрезе на темно-красном фоне селезенки видны мелкие сероватого цвета фолликулы.

- величина и форма почек не изменены. Поверхность почек коричневатого цвета, гладкая, капсула тонкая, прозрачная, легко снимаемая. На разрезе органа хорошо различимы корковое и мозговое вещество.

- надпочечники округлой формы, бледно-желтого цвета, с гладкой поверхностью, умеренно плотные. На разрезе четко видно темноокрашенное мозговое вещество.

- мочевой пузырь заполнен прозрачной мочой. Слизистая оболочка пузыря гладкая, блестящая, бледной окраски.

- тело матки самок обычной плотности, величины и формы. Рога матки тонкие, слизистая — блестящая, бледная. Яичники темно-красного цвета, с неровной поверхностью, умеренно плотные. Яички самцов беловатого цвета, обычных размеров и плотности.

- оболочки головного мозга тонкие, прозрачные. Вещество мозга обычной плотности, поверхность мозга гладкая. На фронтальных разрезах мозга отчет-

ливо выделяются серое и белое вещество. Желудочки мозга обычной величины, расширения нет.

Патологоанатомические исследования и определение относительных коэффициентов массы внутренних органов показали, что БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» не вызывали токсических дегенеративных изменений лимфоидных и важнейших внутренних органов.

Таблица 5

Оценка кумулятивного действия изучаемых БАД в сравнении с контролем

| Исследования | контроль дистиллированная вода | «Астаксион» | «Сомниум» |
|---|---|---|---|
| Общее состояние | отсутствуют | отсутствуют | отсутствуют |
| Гематологические показатели | отсутствуют | отсутствуют | отсутствуют |
| Биохимические показатели | отсутствуют | отсутствуют | отсутствуют |
| Макро- и микроскопическое и гистологическое исследование органов и тканей | отсутствуют | отсутствуют | отсутствуют |

Таким образом, проведенные исследования БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» показали, что ежедневное в течение 28 дней внутрижелудочное введение их в возрастающей дозе не провоцирует у крыс летальных эффектов, не приводит к значимым изменениям физиологических показателей, не вызывает дистрофических или деструктивных изменений паренхиматозных органов и не сопровождается раздражением слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. По интегральным показателям субхронической токсичности БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» не обладают способностью к кумуляции.

*3. Изучение сенсибилизирующего действия.*

Сенсибилизирующий эффект исследуемых БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» оценивался скарификационным методом.

У опытных животных через 10 суток после субхранического эксперимента выявляют сенсибилизацию постановкой кожной скарификационной пробы с каплей каждого изучаемого БАД к пище отдельно (теста - антигена), количество которого не вызывает видимой реакции у животных (1/2 от суточной дозы), животным контрольной группы, получавшим внутрижелудочно дистиллированную воду, разрешающая доза вводилась аналогично подопытным животным: на участок боковой поверхности туловища наносили каплю исследуемого

препарата в дозе, превышающей сенсибилизирующую в 1,5-2 раза (≈0,8 -1,0 гр.) с последующим надрезом скарификатором через каплю длинной 1-1,5 см.

Тестирование, проведенное после скарификационной пробы исследуемых БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» показало следующее: во всех группах животных реакция была четко отрицательной (по оценочной шкале: «– ») т.е. индекс сенсибилизации (Is) составил 0 баллов в каждом образце.

Таблица 6

Результаты оценки сенсибилизирующего действия изучаемых БАД к пище (баллы)

| Испытанная концентрация | Гипе-ремия | Гиперемия и уплотнение | Волдырь до 5 мм , гипе-ремия вокруг | Волдырь до 10 мм, лихенификация | Is, баллы |
|---|---|---|---|---|---|
| Контроль, дистиллирована вода | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0 |
| «Астаксион» | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0 |
| «Сомниум» | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0 |

Следовательно, БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум» не обладают сенсибилизирующим действием (среднегрупповой индекс сенсибилизации Is =0 баллов), т.е. не провоцируют развитие аллергии.

## З А К Л Ю Ч Е Н И Е

Проведенные испытания показали, что БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум», производства ООО «HVARA», Узбекистан –не вызывают гибели животных, не оказывают отрицательного воздействия на состояние здоровья экспериментальных животных, не токсичны (4 класс –малотоксичные вещества), не обладают кумулятивным, раздражающим слизистые оболочки глаз (Iir= 0 баллов) и сенсибилизирующим (Is =0 баллов) действием, у опытных животных не вызывают дистрофических, некротических и воспалительных изменений внутренних органов.

Следовательно, БАД к пище «Астаксион» и «Сомниум», производства ООО «HVARA», Узбекистан по токсикологическим показателям соответствуют требованиям безопасности.

Зав. профилактической токсико-гигиенической лаборатории УСЭН ГМУ при АП РУз питания, д.м.н., с.н.с. О.Л. Элинская

Врач-лаборант Л.К. Элмуродов

Лаборант З. Абдурасулова