



## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время большое значение приобретают проблемы, связанные с ветеринарно-санитарным и экологическим благополучием кормов и кормовых добавок. Их загрязнение различными ксенобиотиками естественного и антропогенного происхождения, приводит к тому, что качественная оценка на основе физико-химических методов анализа, несмотря на ее большую информативность, в ряде случаев становится трудноосуществимой. Это связано с большими затратами времени и средств на проведение исследований, а также отсутствием методов индикации многих веществ, которые могут отрицательно влиять на здоровье человека и животных. Кроме того, количественное определение содержания ксенобиотиков или различных алиментарных факторов не позволяет в полной мере судить о главном - степени опасности измеренных уровней, их возможном токсико-биологическом эффекте, который может существенно меняться в зависимости от формы соединений, взаимодействия различных веществ друг с другом и с компонентами окружающей среды, ее физико-химических и биологических характеристик.

Неслучайно поэтому в последние годы уделяется большое внимание разработке методов биологической оценки качества кормов и продуктов животноводства.

Однако применение для этих целей высших животных нередко бывает затруднительным по целому ряду причин. Несомненный интерес представляют простейшие – инфузории, парамеции, стилонихии, колподы и др. имеющие сходство с высшими животными по ряду основных параметров обмена веществ. Преимуществом использования тест-организмов являются быстрота анализа, его относительная простота и дешевизна, высокая чувствительность к токсическим факторам и наглядность в проявлении биологического эффекта.

Одним из таких тест-организмов является инфузория *Tetrahymena pyriformis* – реснитчатая инфузория относится к классу простейших. По своим генетическим особенностям она занимает промежуточное место между высшими животными и микробами.

Преимущество *Tetrahymena pyriformis* перед другими животными заключается в том, что введенный в жидкую среду, где обитает инфузория, корм воздействует на нее не только изнутри, вследствие его заглатывания и переваривания, но и снаружи, так как частично, в отличие от высших животных, она питается и путем всасывания через свои мембраны, покрытые многочисленными порами, простых пищевых веществ (аминокислот, солей, витаминов).

На эти же оболочки действуют и вредные вещества, возможно, присутствующие в исследуемом продукте. В результате не только резко сокращается время выявления токсического действия пищи, но и на эти же оболочки действуют и вредные вещества, присутствующие в исследуемом про-

дукте. В результате сокращается время выявления токсического действия пищи и уменьшаются ее количества, необходимые для таких целей, вплоть до минимальных уровней, не улавливаемых организмом высших животных, имеющих более мощные механизмы защиты от многих вредных факторов внешней среды. Наиболее близко к инфузориям по этим свойствам стоят культура тканей и личинки насекомых.

Использование тест-организма инфузории *Tetrahymena pyriformis* при изучении безвредности и токсичности исследуемых продуктов и кормов дает следующие преимущества:

- позволяет изучить одновременно большое количество проб;
- из-за высокой интенсивности обмена веществ у простейших, они скорее реагируют на вредные включения;
- за сутки происходит смена поколений 2–4 раза, что позволяет выявить возможные воздействия на генетический аппарат клетки, что важно при анализе продуктов, содержащих радионуклиды;
- данный метод прост в использовании, компактен, безвреден и имеет низкую себестоимость;
- использование инфузорий дает возможность в течение 24 часов сделать предварительное заключение о безвредности продукта.

Данный метод можно использовать в научно-исследовательской работе и для контроля качества сырья и получаемой продукции.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ БИОПРОБЫ НА ИНFUZОРИЯХ ТЕТРАХИМЕНА ПИРИФОРМИС**

### **1.1 СУЩНОСТЬ МЕТОДА**

Метод ускоренной оценки токсичности кормов и кормовых добавок для животных основан на воздействии водных или ацетоновых (для токсичных веществ микогенного происхождения) экстрактов изучаемого продукта на тест-организмы инфузории *Tetrahymena pyriformis*.

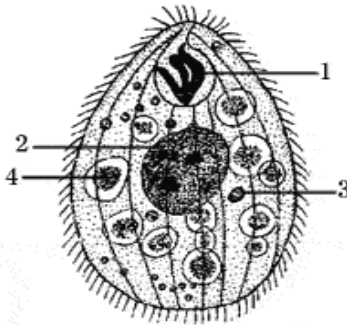
Токсический эффект определяется по угнетению процессов жизнедеятельности инфузории *Tetrahymena pyriformis*, по гибели инфузорий, характеру движения, наличию измененных форм и мертвых клеток в культуре. Данный метод также позволяет выявить отдаленные отрицательные последствия влияния продукта на организм в течение ряда поколений.

### **1.2 ХАРАКТЕРИСТИКА ИНFUZОРИЙ TETRAHYMENA PYRIFORMIS**

Реснитчатая инфузория *Tetrahymena pyriformis* относится к классу простейших. По своим генетическим особенностям она занимает промежуточное место между высшими животными и микробами. Систематическое положение *Tetrahymena pyriformis* следующее: Царство *Protozoa*, Класс *Ciliophora*, Подкласс *Oligohymenophorea*, Отряд *Hymenostomatida*, Семейство *Tetrahymenidae*, Род *Tetrahymena*, Вид *Tetrahymena pyriformis* (Ehrenberg,

1830, Furgason, 1940).

Размер *Tetrahymena pyriformis* составляет 20x50 мкм, вес  $1,5 \times 10^{-9}$  г. Клетка покрыта двойным слоем мембраны с многочисленными порами: до 200 на  $1 \text{ мкм}^2$ . Имеет ротовое отверстие с 4-мя мембранами, глотку пищеварительные вакуоли, сократительную вакуоль. Размножается делением через 2,5-6 часов. Тип пищеварения кислотнo-щелочной. Оптимум pH для роста 6,5-7,5. Пределы температуры жизни – 13-28<sup>0</sup>С. При температуре ниже 18<sup>0</sup>С рост простейших резко замедляется, при температуре выше 30<sup>0</sup>С инфузория гибнет, при 37<sup>0</sup>С – лизируется. В лабораторных условиях культивируется при температуре (22±3<sup>0</sup>С) или в хладотермостате при заданных выше параметрах температуры. Культура хорошо переносит 1%-ный водный раствор поваренной соли, но гибнет в 2 %-ном. Инфузория аэроб, по потребностям к аминокислотам *Tetrahymena pyriformis* близко стоит к высшим животным. Движение у здоровых клеток прямолинейное, поступательное при помощи ресничек и жгутиков.



**Рисунок 1. Схема строения инфузории *Tetrahymena pyriformis*.  
(1 - ротовой аппарат; 2, 3 - макро- и микронуклеус;  
4 - пищеварительные вакуоли)**

### **1.3 АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ**

Для проведения исследований используют следующие материалы и оборудование:

- весы лабораторные равноплечие 2 класса точности модель ВЛР-200 или аналогичные;
- мельница лабораторная марки МРП-2 или других аналогичных марок;
- микроскоп бинокулярный, с увеличением не менее 7x10;
- рН-метр;
- хладотермостат воздушный ХТ-3/40-2 или аналогичный с диапазоном рабочих температур от +3 до +40<sup>0</sup>С;

- сушильный шкаф с диапазоном рабочих температур от +10 до +250°C
- лампа бактерицидная по действующим ТНПА;
- холодильник с температурой холодильной камеры от +2 до +8 °С;
- плитка электрическая;
- водяная баня с диапазоном рабочих температур от температуры на 5°C выше комнатной и до 90°C;
- термометр ртутный с интервалом измерения температуры от 0 до +100 °С по ГОСТ 13646;
- спиртовка;
- фарфоровая ступка № 3 с пестиком № 3;
- штатив лабораторный;
- пробирки биологические П2-21-200;
- пипетка с делениями 8–2–0,1; 2–1–2–1; 2–1–2–2; 2–1–2–5; 2–1–2–10 по ГОСТ 29227;
- колбы конические без шлифа КН-3–100–34 и КН-3–250–34 по ГОСТ 1770;
- счетная камера Фукса-Розенталя;
- пенфлаконы на 10 мл или 20 мл с резиновыми пробками со срезом в валике для аэрации среды;
- вата;
- марля;
- пептон бактериологический;
- дрожжевой экстракт;
- глюкоза х.ч.;
- морская соль или соль поваренная х.ч.

#### 1.4 КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ИНFUЗОРИЙ

Для выращивания инфузорий используют пептонную среду следующего состава (г/100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды): пептон бактериологический – 2,0, глюкоза – 0,5, дрожжевой экстракт – 0,1, натрий хлористый – 0,1. рН среды доводят до 7,0–7,5, разливают по 2 см<sup>3</sup> в бактериологические пробирки и стерилизуют в автоклаве в течение 30 мин при давлении 1 атм. Питательная среда хранится в холодильнике в течение 2 месяцев.

Культуру инфузорий поддерживают на пептонной среде путем пересева бактериологической петлей или путем внесения пастеровской пипеткой 3–6 капель взвеси клеток на свежую среду через каждые 10–15 дней. При пересеве на длительное хранение культуры используют среду следующего состава (г/100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды): глюкоза – 1,5, дрожжевой экстракт – 0,1, натрий хлористый – 0,1. рН среды доводят до 7,0–7,5. Среду разливают в конические колбы так, чтобы толщина слоя среды была 1,5 см и стерилизуют в автоклаве в течение 30 мин при 1 атм. После остывания до комнатной температуры в колбы вносят по 3–6 капель 3-х суточной культуры инфузорий,

выращенных на пептонной среде и хранят в хладотермостате при температуре  $(20 \pm 3^{\circ}\text{C})$ . Инфузории остаются жизнеспособными в течение 1,5–2 месяцев.

Пересев культуры необходимо осуществлять с соблюдением правил асептики в условиях микробиологического бокса или в ламинарном шкафу. При его отсутствии допускается работать в лабораторном помещении с использованием спиртовки. Помещение должно быть без сквозняков, непроходным, температура воздуха не ниже  $18^{\circ}\text{C}$ .

При появлении посторонней микрофлоры культуру *Tetrahymena pyriformis* очищают с применением антибиотиков. Пересев на среду, содержащую антибиотики, делают через 3–4 дня до полной очистки культуры *Tetrahymena pyriformis*.

### 1.5 ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ ИССЛЕДУЕМОГО ОБРАЗЦА НА ТОКСИЧНОСТЬ

Образец изучаемого продукта или корма отбирается с соблюдением правил соответствующего ГОСТа. Для токсико-биологической оценки из средней пробы общей массой  $230,0 \pm 20,0$  г отбирают и растирают в ступке  $4,0 \pm 1,0$  г изучаемого продукта.

Испытания на тест-объектах инфузориях *Tetrahymena pyriformis* проводится двумя способами:

**1 способ.** Из приготовленной пробы берут не менее трех навесок 40, 80 и 120 мг (в сомнительных случаях массу навесок удваивают). В пен-флаконы наливают по  $5,0 \text{ см}^3$  0,5 % раствора хлорида натрия и туда же вносят навеску изучаемого продукта, предварительно перетертого в ступке. Содержимое флаконов хорошо перемешивается и после этого во флаконы вносят пастеровской пипеткой 1 каплю ( $0,05 \text{ см}^3$ ) трехсуточной культуры *Tetrahymena pyriformis*, выращенных на пептонной среде.

Исследования каждого образца проводят в трех повторностях. Контролем при анализе изучаемых образцов служат флаконы, содержащие пептонную среду с инфузориями без внесения навески. При изучении токсичности кормовых добавок, премиксов вводимых в комбикорм в контрольных пробах используют этот же комбикорм без внесения этих добавок, премиксов.

Содержимое флаконов тщательно встряхивают и оставляют при комнатной температуре или в хладотермостате (температура  $23,0 \pm 1,0 \text{ C}^0$ ) на 24 часа в затемненном месте. В течение суток флаконы необходимо 4–6 раз встряхивать для аэрации среды и взмучивания осевших частиц исследуемого материала. Наблюдения за жизнедеятельностью клеток проводят в течение 24 часов, причем первые 3 часа через каждые 30 минут, затем через 4, 6, 12, 24 и 96 часов. Перед исследованием под микроскопом флаконы с образцами взмучивают и после оседания корма пастеровской пипеткой отбирают надосадочную жидкость, вносят на подготовленную камеру Фукса-Розенталя и исследуют под микроскопом на наличие живых, не изме-

нённых клеток и их подвижность.

Камеру Фукса-Розенталя готовят в соответствии с паспортом к камере.

**2 способ.** Испытуемый образец корма или кормовой добавки после измельчения и гомогенизации в ступке, в количестве 120 мг вносим в пенициллиновые флаконы с 2,0–3,0 см<sup>3</sup> пептонной среды. После тщательного перемешивания во флаконы со средой вносим по 1,0 см<sup>3</sup> трехсуточной культуры инфузорий *Tetrahymena pyriformis* и помещаем в хладотермостат (температура 23,0±1,0°C) для инкубации на 30 минут. Через 30 минут бактериальной петлей или пастеровской пипеткой берем каплю испытуемого образца и помещаем в камеру Фукса-Розенталя. Микроскопируем препарат при увеличении 7х10. Контролем служит пептонная среда с инфузориями без изучаемого продукта. Повторную микроскопию проводим через 1 час после постановки пробы.

## 1.6 ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Токсичность исследуемых образцов изучаемого продукта определяют по наличию погибших инфузорий *Tetrahymena pyriformis*, изменению их форм, характера движения, угнетения роста. Погибшими инфузориями считают те особи, которые не проявляют признаков жизни (не подвижны, имеют признаки разрушения клетки). Изменение формы может выражаться в образовании различных выпячиваний, деформации, удлинении или укорачивании клеток инфузорий. Изменение характера движения определяют по наличию клеток с вращательным, веретенообразным или круговым движением. Угнетение роста инфузорий можно определить по меньшему количеству размножившихся особей по сравнению с контролем.

Наличие мертвых или деформированных клеток, замедленное и измененное движение, угнетение роста и размножения инфузорий по сравнению с контролем свидетельствует о токсичности исследуемого продукта. Необходимо учесть, что при культивировании *Tetrahymena pyriformis* могут выявляться 0,2–1,0 % измененных клеточных форм, теней, старых и делящихся клеток с нарушением движения, поэтому исследования изучаемого продукта всегда проводить на фоне контрольных образцов.

Снижение активности размножения инфузорий до 20 % по сравнению с контрольным образцом, без изменения формы, характера движения и гибели клеток объясняется более низкой питательностью изучаемого продукта.

Отсутствие гибели инфузорий или других несвойственных здоровой инфузории изменений в течение 24 часов (1 способ) или 1 часа (2 способ) свидетельствует об **отсутствии токсичности** исследуемого образца.

Гибель или изменение форм и характера движений инфузорий в пределах 10-30 % свидетельствует о наличии **слабой степени токсичности**.

Изменение форм, характера движения и гибель инфузорий от 30 % до 50 % указывает на **среднюю степень токсичности** исследуемого образца.

Изменение форм, характера движения и гибель инфузорий от 50 % и выше, наличие цист, деформированных клеток, теней свидетельствует о **сильной степени токсичности** исследуемого продукта.

Снижение степени размножения инфузорий, наличие измененных форм, характера движений и гибель тест-организмов через 96 часов культивирования свидетельствует о кумуляции токсических веществ изучаемого продукта.

## **2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ КОРМОВ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК ПУТЕМ ПРОВЕДЕНИЯ БИОПРОБЫ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

При определении токсичности изучаемых образцов кормов и кормовых добавок путем скармливания используют цыплят в возрасте 10–15 дней, молодых мышей, живой массой  $18,0 \pm 2,0$  г, морских свинок живой массой не более  $150,0 \pm 10,0$  г, кроликов живой массой  $1,5 \pm 0,2$  кг.

Перед началом опыта животных выдерживают в течение 6 часов без корма, вода без ограничений. Для изучения одного образца на токсичность берут 10 животных и скармливают изучаемый образец в течение 10 дней в количествах предусмотренных инструкцией по применению производителя данного продукта. За животными в течение опыта ведут наблюдение, учитывают количество съедаемого корма, общее клиническое состояние. Контролем служит такой же вид животного, как в опыте. Контрольные животные должны находиться в тех же условиях и получать основной рацион, предусмотренный для данного вида и группы животных. В начале и конце опыта подопытных животных необходимо взвесить.

При постановке биопробы, мышей, морских свинок, кроликов показательными показателями токсичности являются потери в живой массе, расстройство желудочно-кишечного тракта (понос, запор), нарушения в деятельности центральной нервной системы (дрожь, угнетение или возбуждение, нарушение координации движения, судороги, паралич), у цыплят – потери в весе, цианоз гребня, сережек, сонливость, нередко понос, развитие анемии, судороги, параличи, рвота.

Токсичные корма могут вызвать гибель подопытных животных без проявления клинических признаков. Если после скармливания животным исследуемых кормов гибель в течение 10 суток не наступает, то их при необходимости подвергают убою и патологоанатомическому вскрытию.

При вскрытии павших и убитых животных обнаруживают катаральное воспаление желудочно-кишечного тракта, иногда с кровоизлияниями на слизистой, а также дегенеративные изменения в паренхиматозных органах. У цыплят обнаруживаются изменения в печени – характерен токсический гепатит разной интенсивности как павшей, так и убитой птицы (цвет печени оранжевый, желтый и т.д.).



### 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ БИОПРОБОЙ НА КРОЛИКАХ

Сущность метода заключается в проведении исследований на коже кролика, основанных на дерматонекротическом действии токсических веществ микогенного происхождения, извлекаемых из кормов ацетоном.

**3.1 Для проведения исследования используют следующие аппаратуру, материалы и реактивы:**

- шкаф вытяжной;
- аппарат для встряхивания жидкостей;
- мельница лабораторная марки МРП-2 или других аналогичных марок;
- весы лабораторные общего назначения второго класса точности по ГОСТ 24104;
- баня водяная;
- колбы с пришлифованными пробками исполнения 2 вместимостью 500 и 1000 см<sup>3</sup> второго класса точности по ГОСТ 1770;
- чашки выпарительные № 5 вместимостью 250 см<sup>3</sup> по ГОСТ 9147;
- воронки лабораторные по ГОСТ 25336;
- цилиндры мерные вместимостью 250 см<sup>3</sup> по ГОСТ 1770;
- лопатки стеклянные или пластмассовые для нанесения экстракта;
- ножницы;
- бумага фильтровальная по ГОСТ 12026;
- ацетон ч.д.а. по ГОСТ 2603;
- кролики живой массой 2,0±0,5 кг.

#### **3.2 Подготовка и проведение испытания**

*Подготовка пробы исследуемого образца корма.*

Пробу корма измельчают на мельнице. В колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 500 см<sup>3</sup> помещают 50 г измельченного корма, заливают 150 см<sup>3</sup> ацетона, причем так, чтобы слой экстрагента был не ниже 1 см над исследуемым образцом корма, и экстрагируют 24 часа, периодически встряхивая, или экстрагируют 3 ч на аппарате для встряхивания жидкостей.

После экстрагирования жидкость фильтруют в выпарительную чашку через бумажный фильтр. В оставшуюся в колбе пробу корма добавляют ацетон не менее 20 см<sup>3</sup>, промывают и фильтруют через тот же фильтр.

Экстракт концентрируют до получения маслянистого остатка желтоватого или коричневого оттенка. Для ускорения процесса чашку для выпаривания с экстрактом помещают на водяную баню (температура 35,0±5,0<sup>0</sup>С). Оставшийся на стенках чашки экстракт смывают ацетоном на дно чашки и снова концентрируют.

На выстриженный участок кожи кролика в области бедра, лопатки или бока (6 см х 6 см) стеклянной лопаткой наносят ½ экстракта корма, слегка втирая, оставшуюся ½ часть экстракта наносят на следующий день на то же место. Если количество экстракта недостаточно для двух нанесений, его предварительно разбавляют растительным маслом до количества не менее

1 г. На одном кролике допускается проводить одновременно не более четырех проб. После нанесения экстракта необходимо следить, чтобы животное его не слизывало.

### **3.3. Оценка результатов токсичности по кожной пробе**

Наблюдение за реакцией начинают на следующий день после повторного нанесения экстракта и продолжают в течение 3–5 суток в зависимости от степени токсичности.

Токсичность исследуемого корма определяют по наличию воспалительного процесса на участке нанесения экстракта.

При отсутствии воспалительной реакции изучаемый корм считается не токсичным. Допускается наличие гиперемии, которая исчезает в течение 2 суток, но не более и не сопровождается шелушением кожи. Такой корм используют без ограничений.

Если на коже после нанесения экстракта наблюдается гиперемия, сохраняющаяся 2–3 суток, заканчивающаяся шелушением кожи или на месте нанесения наблюдается гиперемия, болезненность и отечность, проявляющиеся незначительным утолщением кожи с последующим образованием отдельных чешуек, то корм считается слаботоксичным. При выявлении слабой токсичности продукта его направляют на повторные испытания, а также на микологические и химико-токсикологические исследования для определения природы токсического вещества и его количества.

При резкой гиперемии, болезненности, складчатости, отеке обрабатываемом участке кожи, которые проявляются сильным утолщением кожи, появление язв, сплошных струпов корм считается токсичным. Токсичный корм дальнейшему использованию не подлежит.

## **4. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Результаты испытаний заносят в специальный журнал и (или) оформляют протоколом исследования, где указывают степень токсичности изучаемого образца и возможность дальнейшего его использования.

Если исследуемый образец корма или кормовой добавки по результатам экспертизы был нетоксичным, данный образец дальнейшему исследованию не подлежит и используется без ограничения. При выявлении токсичности продукта его направляют на повторные испытания согласно п. 1.5 настоящих рекомендаций, а также на микологические и химико-токсикологические исследования для определения природы токсического вещества и его количества.

## **5. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Качество кормов и кормовых добавок по показателю токсичность оценивают по выживаемости тест-объектов:

- Если корма и кормовые добавки не имеют признаков порчи и отвечают всем требованиям качества согласно ГОСТа или ТУ их оценка по ток-

сичности проводится по любому способу, изложенному в настоящих Методических рекомендациях. Нетоксичный корм дальнейшему исследованию не подвергается и используется без ограничений.

•Если корма имеют отклонения по органолептическим показателям и не отвечают требованиям, заложенным в ТНПА на данный вид продукции, а также при проведении исследований на токсичность являются слаботоксичными, то с данными образцами проводятся исследования по п. 1 и п. 2 настоящих Методических рекомендаций с определением ацетоно- и водорастворимых токсических фракций.

•Если при повторном исследовании будет установлена токсичность исследуемого образца, то устанавливают природу токсичности с помощью специальных методов на анализаторах. Определение токсичности кормов методом кожной пробы на кролике (п.3 настоящих методических рекомендаций) является дополнительным тестом для выявления наличия микотоксинов, обладающих дерматонекротическим действием.

•Если природу токсичности после проведения специальных методов установить не удастся, такой корм к использованию не допускают. Вопрос о дальнейшем использовании корма решают ГУ «Белгосветцентр» или другие уполномоченные организации с проведением биопробы на лабораторных и сельскохозяйственных животных.

## **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1 Лемеш В.М., Титова Л.Г., Пахомов П.И. Контроль доброкачественности продуктов растительного происхождения: Пособие/ В.М. Лемеш, Л.Г. Титова, П.И. Пахомов. – Витебск: УО ВГАВМ, 2004.–102 с.

2 Методические указания по токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузорий тетрахимена пириформис (эксперсс-метод) Лемеш В.М., Пахомов П.И., Янченко А.Е., Титова Л.Г., Анисимова Н.Н., Богуш А.А., Лукьянчик С.А., Бельмач М.М., Каменская Т.Н., утв. ГУВ МСХП РБ 11.07.1997.

3 Методические указания по определению токсичности зерна фуражного, продуктов его переработки, комбикормов и входящих в их состав компонентов/А.П. Лысенко, Д.А. Гирис, Б.Я. Бирман, Т.А. Савельева, М.П. Кучинский, Ю.А. Пивоварчик, И.И. Смильгинь, С.П. Лешенко, Л.Н. Сухенко, Л.В. Виолентий, Г.С. Корнилович/ Минск – 2004 – 23 с.

4 Методические указания по санитарно-микологическому исследованию кормов/ Издательство «Колос», Москва – 1970 – 29 с.

5 Методические рекомендации для использования экспресс-метода биологической оценки продуктов и кормов/ Н.Г. Беленький, В.А., Долгов, В.П. Нелюбин, В.Я. Шаблий, Б.П. Суханов, Москва – 1990 – 10 с.

Нормативное производственно-практическое издание

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ  
ПО УСКОРЕННОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ ТОКСИЧНОСТИ  
И БЕЗВРЕДНОСТИ КОРМОВ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК**

Методические рекомендации предназначены для практических ветеринарных специалистов, специалистов государственных ветеринарных служб, предприятий комбикормовой промышленности, слушателей факультетов повышения квалификации.

Подписано в печать 02.03.2015  
Формат 60x90 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная.  
Гарнитура Times New Roman.  
Усл. печ. л. 0,7. Тираж 60 экз. Заказ № 119  
220003, г. Минск, ул. Брикета, 28  
Тел./факс (+375 17) 50 88 131,  
E-mail: [bievm@tut.by](mailto:bievm@tut.by)

---

Отпечатано на полиграфической базе  
РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»