

О. М. Чечет¹, В. Л. Коваленко², О. С. Гайдей¹
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ З ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ
ТА ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ¹, КИЇВ
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ БІОТЕХНОЛОГІЙ
І ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ², КИЇВ

ДОКЛІНІЧНІ ВИПРОБУВАННЯ ПРЕПАРАТУ “БІОМАГН” НА ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ ТА З ВИКОРИСТАННЯМ КУЛЬТУРИ ІНФУЗОРІЙ *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

Вступ. Токсикологічний контроль ветеринарних препаратів запобігає можливим порушенням обміну речовин, негативному впливу на органи і тканини, виникненню побічних дій та віддалених наслідків, створює передумови для визначення оптимальних терапевтичних доз, способів і термінів застосування, шляхів та часу виведення з організму, що, у свою чергу, сприяє розробці нових високоефективних конкурентоспроможних препаратів.

Мета дослідження – провести доклінічні випробування пробіотичного препарату “Біомагн”: визначити гостру токсичність, виявити його можливу шкідливість при одноразовому введенні в організм тварин і встановити токсичні й летальні дози.

Методи дослідження. Токсичність і шкідливість препарату визначали в дослідках на найпростіших тест-організмах інфузоріях тетрахімен піріформіс (*Tetrahymena pyriformis*) та на лабораторних тваринах (білих мишах). Гостру токсичність препарату “Біомагн” вивчали на білих безпородних нелінійних мишах живою масою ($22,5 \pm 0,2$) г, яких годували стандартним гранульованим кормом відповідно до норм правил годівлі. Токсикологічні дослідження проводили згідно з монографією “Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів” (І. Я. Коцюмбас та ін., 2006) і СОУ 85.2-37-736:2011 “Препарати ветеринарні. Визначення гострої токсичності”. Для визначення ступеня кумуляції досліджуваного засобу використовували метод Ю. С. Кагана і В. В. Станкевича.

Результати й обговорення. Під час досліджень встановлено, що імуномодулюючий пробіотичний препарат “Біомагн” на основі магнію хлориду, хітозану, суміші пробіотичних бактерій та ензимів не проявляє токсичних властивостей при взаємодії з інфузоріями впродовж 30 хв, тому що зберігається повна 100 % життєдіяльність особин культури тетрахімен, як і в контрольних пробірках. Як свідчать результати досліджень, гостра токсичність на лабораторних тваринах препарату “Біомагн” становить LD_{50} – 5000 мг/кг живої маси мишей. Під час клінічного спостереження за тваринами дослідних груп у всіх групах відхилень не виявлено, шкірний покрив гладкий, блискучий, відмови від корму не спостерігали, порушень роботи шлунково-кишкового тракту і центральної нервової системи в жодній із груп не відмічено, загибелі й захворювань не відзначено. Препарат “Біомагн” не має шкідливого впливу і стимулює покращення обміну речовин, що, у свою чергу, сприяє збільшенню маси тварин. Гематологічні показники периферичної крові мишей при застосуванні препарату достовірно не змінювались. Усі показники перебували в межах фізіологічної норми та залишалися такими до закінчення терміну експерименту, що вказувало на безпечність і нетоксичність досліджуваного засобу. За встановленими ознаками препарат віднесено до 4 класу щодо небезпечності. Композиція суміші пробіотичних бактерій *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecium*, висушених продуктів ферментації мікроорганізмів *Lactococcus Lactis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* та магнію хлориду, хітозану, яка забезпечує нормалізацію обміну речовин тварин, впливає на підвищення загальної резистентності організму, стимулює роботу органів травлення.

Висновки. За результатами досліджень, проведених з метою визначення гострої токсичності препарату “Біомагн”, можна зробити висновок, що він не токсичний (СОУ 85.2-37-736:2011). Розведення препарату “Біомагн” у різних концентраціях є нешкідливими для найпростіших *Tetrahymena pyriformis*.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: імуномодулюючий; білі миші; магній хлорид; ензими; пробіотичні бактерії; гостра токсичність; тетрахімени піріформіс.

ВСТУП. У результаті впливу негативних факторів навколишнього середовища, погіршення екологічної ситуації істотно змінився стан здоров'я тварин. Крім того, тривале перебування їх

© О. М. Чечет, В. Л. Коваленко, О. С. Гайдей, 2021.

у закритих приміщеннях за відсутності інсоляції та ультрафіолетового опромінення призводить до порушень оптимальних параметрів мікроклімату, діючи на організм численними стрес-факторами, що мають негативний вплив на фізіоло-

гічний стан птахів. При цьому знижується рівень їх неспецифічної резистентності, виникають вторинні імунodefіцити та, як наслідок, масові захворювання. Відбуваються глибокі зміни фізіологічних процесів, таких, як кровообіг, дихання, газообмін, обмін речовин, терморегуляція, споживання корму і води, що, у кінцевому результаті, позначається на продуктивності птахів [1–6].

У руслі зазначеного забезпечення більш повної реалізації продуктивного потенціалу птиці за рахунок імунoproфілактики та імунотерапії організму імунomodulatoryми, пробіотиками, симбіотиками нешкідливими, нетоксичними, які не накопичуються в продуктах птахівництва і не забруднюють навколишнього середовища, та, у кінцевому результаті, отримання безпечної в санітарному й економічному відношенні продукції є актуальною проблемою сучасної ветеринарної медицини [1, 7–9].

Для класифікації лікарського препарату на групи імунomodulatory, пробіотиків необхідно довести його здатність змінювати імунологічну реактивність залежно від її початкового стану і показників імунітету. Для цього досліджуваний препарат повинен пройти доклінічні випробування [2, 10, 11]. Однією з вимог до потенційних лікарських препаратів є визначення співвідношення між їх ефективністю і токсичністю [3–5]. Більшість негативних проявів застосування препаратів можна передбачити за результатами виконаних клінічних випробувань з наступним терапевтичним використанням. Це дозволяє забезпечити нешкідливість нових лікарських засобів [4, 5, 12, 13]. Тому вивчення безпеки потенційних ліків, зокрема гострої токсичності, є одним з найважливіших етапів розробки нових препаратів [5, 6, 8–11, 14–16].

Використання найпростіших тест-організмів інфузорій тетрагімен, стілоніхій, колподи при вивченні токсичності досліджуваних препаратів дозволяє в короткі терміни вивчити токсичність досліджуваного продукту, тому що в найпростіших висока інтенсивність обміну речовин і вони швидше, ніж вищі тварини, реагують на токсичні включення; за рахунок швидкої зміни покоління протягом доби можна вловити віддалені наслідки досліджуваного продукту. Цей метод дає можливість протягом 24 год зробити попередній висновок про нешкідливість продукту [7, 17–19].

Метод прискореного оцінювання токсичності препаратів базується на впливі водних екстрактів досліджуваного продукту на тест-організми. Токсичний тест визначається за характером руху, наявністю змінених форм, пригніченням процесів життєдіяльності найпростіших, їх загибеллю [20–22].

Після виконання експрес-тесту вивчають токсичність досліджуваного продукту шляхом проведення біопроб на лабораторних тваринах [18, 19, 23–29].

Ензими – речовини білкової природи і каталізатори біохімічних процесів, що сприяють розщеплюванню або синтезу речовин в організмі з продуктів розпаду. Застосування їх значно здешевлює корми (до 12 %) та покращує засвоєння організмом. Використання ензимів у годівлі бройлерів збільшує середньодобову прирости їх живої маси на 4–6 %, несучість курей – у середньому на 6 % при зменшенні витрат кормів на 6–11 % [20, 23].

Пробіотики – препарати, до складу яких входять живі мікроорганізми, що є похідними лактобацил та інших компонентів нормальної кишкової мікрофлори, які нормалізують склад і біологічну активність мікрофлори травного каналу. Найчастіше як пробіотичний штам використовують біфідобактерії і молочнокислі бактерії, зокрема лактобацили. Симбіотики – продукти біотехнологічного виробництва, що містять живі мікроорганізми, які продукують у шлунково-кишковому тракті тварин і птахів амінокислоти (в тому числі незамінні), ензими, вітаміни і таким чином сприяють підвищенню продуктивності [30, 31].

Магній хлорид – екологічно чистий мінерал природного походження з бактерицидною дією. Магній в організмі тварин виконує різноманітні функції: бере участь у підтримці нормальної кислотно-лужної рівноваги й осмотичного тиску в рідинах і тканинах організму, також забезпечує функціональну здатність нервово-м'язового апарату. Він входить до складу ензимів, регулює окиснювальні процеси та бере участь у терморегуляції. Магній є внутрішнім катіоном, міститься в мітохондріях клітин і бере участь у процесі проміжного обміну як специфічний активатор або кофактор ряду ензимних систем. Іон магнію бере участь у засвоєнні й обміні енергії, вуглеводів, жирів, біосинтезі протеїнів, впливає на стан неспецифічного імунітету, збудливість нервових закінчень, м'язове скорочення і процеси кальцифікації скелета. Він резервується в кістках та м'яких тканинах (до 2 г/кг) [23, 31].

Унікальна формула препарату діє бактерицидно відносно грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella spp.*, *Serracia*, *Streptococcus pyogenos*), усуває запальні процеси, призупиняє токсичні явища, має загально-нестимулювальну, адаптогенну, тонізуючу дію.

Мета дослідження – провести доклінічні випробування пробіотичного препарату “Біо-

магн” на основі магнію хлориду, хітозану, суміші пробіотичних бактерій *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecium* та висушених продуктів ферментації мікроорганізмів *Lactococcus Lactis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*: визначити гостру токсичність, виявити можливу шкідливість препарату при одноразовому введенні в організм тварин і встановити максимально терапевтичні, токсичні й летальні дози.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Гостру токсичність препарату “Біомагн” вивчали на білих безпородних нелінійних мишах живою масою ($22,5 \pm 0,2$) г, яких годували стандартним гранульованим кормом відповідно до норм правил годівлі [7]. Токсикологічні дослідження проводили згідно з монографією “Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів” (І. Я. Коцюмбас та ін., 2006) [25] і СОУ 85.2-37-736:2011 “Препарати ветеринарні. Визначення гострої токсичності” [26]. Для визначення ступеня кумуляції досліджуваного засобу використовували метод Ю. С. Кагана і В. В. Станкевича. Токсичність і шкідливість препарату визначали в дослідах на найпростіших тест-організмах інфузоріях тетрахімен піріформіс (*Tetrahymena pyriformis*) та на лабораторних тваринах (білих мишах). Експериментальну частину роботи проведено з урахуванням Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, схвалених на Національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) та узгоджених із положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Для дослідження токсичності й шкідливості готували розведення препарату “Біомагн” з розрахунку 20 см^3 речовини на 100 см^3 води (проба № 1); 10 см^3 речовини на 100 см^3 води (проба № 2); 5 см^3 речовини на 100 см^3 води (проба № 3); 1 см^3 речовини на 100 см^3 води (проба № 4); $0,1 \text{ см}^3$ речовини на 100 см^3 води (проба № 5).

Облік на шкідливість зразка препарату в 5 розведеннях проводили на найпростіших культурах *Tetrahymena pyriformis* через 2, 4, 6, 24 і 96 год. Під мікроскопом визначали наявність (відсутність) видозмінених форм інфузорій, характер їх руху, наявність загиблих найпростіших [22, 29]. Визначали тератогенність інфузорій *Tetrahymena pyriformis* – виникнення механізму формування і проявів уроджених дефектів, уроджених аномалій або вад розвитку, які спричи-

няють порушення розвитку організму (ділення клітин та їх репродукцію).

Для визначення гострої токсичності препарату “Біомагн” його вводили білим мишам внутрішньошлунково за допомогою шприца з голкою-зондом у 2 прийоми з інтервалом 6 год у дозі 5000 мг/кг живої маси. Протягом однієї доби перед початком дослідів миші були витримані на карантині для адаптації.

У досліді сформували 6 груп білих безпородних нелінійних різностатевих тварин по 6 голів у кожній: 1-ша – мишам вводили розведення препарату з розрахунку 20 см^3 речовини на 100 см^3 води, в кількості $0,6 \text{ мл}$; 2-га – 10 см^3 речовини на 100 см^3 води, в кількості $0,6 \text{ мл}$; 3-тя – 5 см^3 речовини на 100 см^3 води, в кількості $0,6 \text{ мл}$; 4-та – 1 см^3 речовини на 100 см^3 води, в кількості $0,6 \text{ мл}$; 5-та – $0,1 \text{ см}^3$ речовини на 100 см^3 води, в кількості $0,6 \text{ мл}$; тваринам 6-ї (контрольної) групи вводили внутрішньошлунково воду питну в кількості $0,6 \text{ мл}$. Після двогодинної витримки мишам вводили основний раціон та воду без обмежень. За тваринами вели щоденні спостереження, у клінічних спостереженнях враховували наявність чи відсутність ознак порушення роботи шлунково-кишкового тракту і центральної нервової системи. Мишей до початку і в кінці експерименту зважували. Після закінчення експерименту тварин дослідних груп піддавали забою і патологоанатомічному розтину.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На першому етапі досліджень було встановлено, що препарат “Біомагн” не проявляє токсичних властивостей при взаємодії з інфузоріями впродовж 30 хв, тому що зберігається повна 100 % життєдіяльність особин культури *Tetrahymena pyriformis*, як у контрольних пробірках.

Тератогенного ефекту не виявлено. У процесі контролю спостерігали ділення клітин та їх репродукцію.

В експерименті з вивчення токсичності та шкідливості дослідних проб препарату “Біомагн” на тест-організмах інфузоріях через 2, 4, 6, 24 і 96 год змін форм найпростіших і характеру їх руху не відмічали, що свідчило про відсутність шкідливого впливу в досліджуваних водних екстрактах. Біологічна цінність, що характеризує якість і здатність засвоєння дослідних зразків препарату в досліді найпростішими відносно контролю (середовище для найпростіших), становила: проба № 1 – 99,7 %; проба № 2 – 99,9 %; проба № 3 – 100,1 %; проба № 4 – 100,3 %; проба № 5 – 100,5 %. Досліди проводили у трьох повторях (табл. 1).

У досліді на лабораторних тваринах білим мишам примусово протягом 10 діб зранку на

Таблиця 1 – Вивчення шкідливості препарату “Біомагн” у досліді на найпростіших *Tetrahymena pyriformis*

Номер проби	Кількість інфузорій	Відсоток щодо контролю	Шкідливість
Проба № 1 (20 г препарату+100 см ³ води)	151,7±0,5	99,7	Не шкідливий
Проба № 2 (10 г препарату+100 см ³ води)	152,0±0,3	99,9	Не шкідливий
Проба № 3 (5 г препарату+100 см ³ води)	152,2±0,1	100,1	Не шкідливий
Проба № 4 (1 г препарату+100 см ³ води)	152,6±1,0	100,3	Не шкідливий
Проба № 5 (0,1 г препарату+100 см ³ води)	152,8±0,1	100,5	Не шкідливий
Контроль (вода питна)	152,1±0,2	100,0	Не шкідливий

голодний шлунок вводили внутрішньошлунково розведення препарату “Біомагн”.

При внутрішньошлунковому введенні препарату “Біомагн” у дозі 5000 мг/кг маси тіла клінічних ознак інтоксикації в білих мишей не відмічали. Протягом усього періоду спостереження тварини були активними, від корму та води не відмовлялися.

Загибелі лабораторних тварин при введенні препарату не відзначали.

Згідно з результатами проведених досліджень, доза, яка не викликала загибелі тварин при внутрішньошлунковому введенні (LD₅₀), становила 5000 мг/кг маси тіла, введення більшої дози не можливе через фізіологічні особливості (невелику масу) мишей.

За результатами досліджень, проведених з метою визначення гострої токсичності препарату “Біомагн”, можна зробити висновок, що він не токсичний (СОУ 85.2-37-736:2011).

Аналіз результатів досліджень показав, що в дослідних (1–5) групах, як і в контрольній, маса тіла лабораторних мишей не тільки не зменшувалася після застосування препарату, а навпаки, почала збільшуватися вже з 6-ї доби. Тобто цей препарат не має шкідливого впливу і стимулює покращення обміну речовин, що, у свою чергу, сприяє зростанню маси тіла тварин (табл. 2).

Встановлено, що в дослідних групах приріст живої маси однієї тварини в середньому становив: проба № 1 – 2,2 г (9,7 %); проба № 2 – 2,1 г (9,2 %); проба № 3 – 2,4 г (10,6 %); проба № 4 – 3,61 г (15,9 %); проба № 5 – 3,64 г (16,1 %); у контрольній групі – 2,9 г (12,8 %) (табл. 3, рис. 1).

Під час клінічного спостереження за тваринами дослідних груп у всіх групах відхилень не виявлено, шкірний покрив гладкий, блискучий, відмови від корму не спостерігали, порушень роботи шлунково-кишкового тракту і центральної нервової системи в жодній із груп не відмічено, загибелі й захворювань не відзначено.

Досліджено стан деяких показників периферичної крові білих мишей у разі застосування препарату “Біомагн” (табл. 4). Під час використання цього препарату показники морфологічного складу крові в лабораторних тварин перебували в межах норми. У всіх дослідних групах спостерігали тенденції до збільшення кількості еритроцитів і зростання концентрації гемоглобіну, що сприяло підтриманню іонного гомеостазу, покращенню адсорбції токсинів, поліпшенню обміну речовин.

Слід зазначити, що всі вищезгадані гематологічні зміни у периферичній крові білих мишей при застосуванні препарату мали тимчасовий характер, оскільки аналогічні дослі-

Таблиця 2 – Результати зважування білих мишей під час вивчення гострої токсичності препарату “Біомагн” при внутрішньошлунковому введенні

Показник	Дослідна група	Контрольна група
Жива маса до введення препарату, г	22,5±0,2	22,6±0,1
Жива маса через 10 днів після введення препарату, г	24,6±0,1	24,6±0,2
Приріст живої маси, г	2,1±0,1	2,1±0,1

Таблиця 3 – Дослід з вивчення токсичності на білих мишах

Номер проби	Кількість голів	Маса всіх тварин групи	Маса однієї тварини	Маса всіх тварин групи	Маса однієї тварини	Приріст відносно контролю	
		на початку досліді		в кінці досліді		г	%
Контроль	6	135,6±0,6	22,6±0,3	138,5±1,2	25,5±0,5	2,9	12,8
Проба № 1	6	133,8±0,5	22,3±0,2	136,0±1,0	24,5±0,4	2,2	9,7
Проба № 2	6	133,4±0,8	22,2±0,3	135,5±1,1	24,3±0,7	2,1	9,2
Проба № 3	6	135,0±1,0	22,5±0,5	137,4±0,9	24,9±0,4	2,4	10,6
Проба № 4	6	132,9±0,6	22,1±0,2	136,5±0,9	25,7±0,5	3,61	15,9
Проба № 5	6	134,5±0,7	22,4±0,8	138,1±0,5	26,1±0,2	3,64	16,1

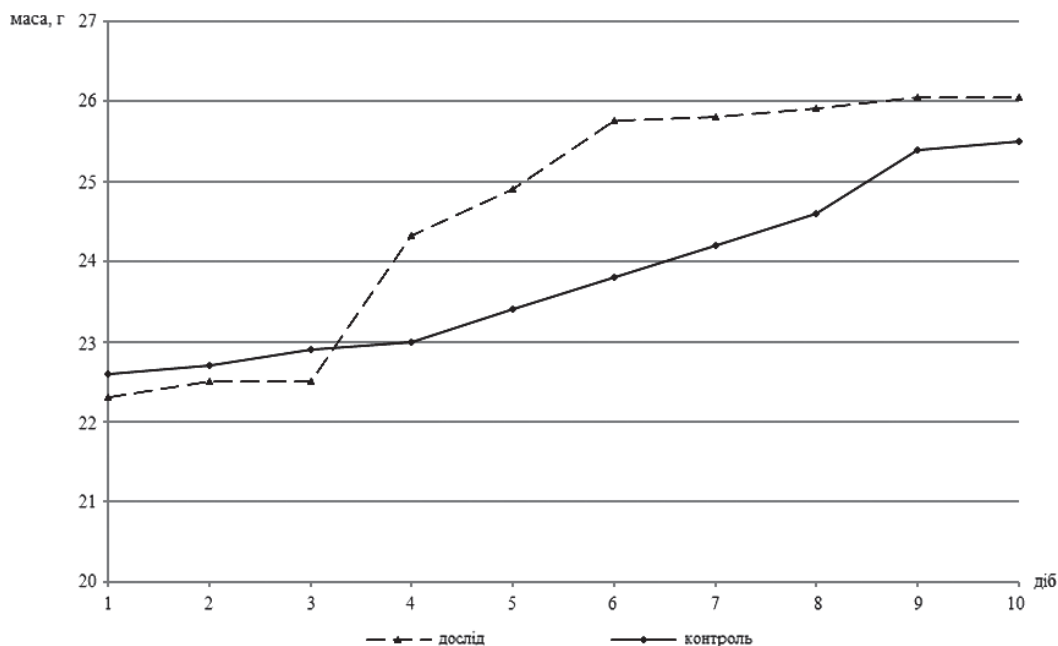


Рис. 1. Зміна маси тіла лабораторних мишей при внутрішньошлунковому введенні препарату "Біомагн".

дження через 7 дів після його використання показали, що всі показники перебували в межах фізіологічної норми та залишалися такими до закінчення терміну експерименту, що вказувало на безпечність та нетоксичність досліджуваного засобу.

Враховуючи дослідження і розробки пробіотиків дослідниками [9, 31], ми ввели в препарат "Біомагн" алюмосилікат. Завдяки його високому вмісту препарат має виражені сорбційні властивості, це дає можливість ефективно сорбувати мікотоксини або інші токсини з корму. Ензими, які входять до складу кормової добавки, частково руйнують мікотоксини, а також розріджують хімум, чим полегшують його проходження по кишечнику. Аналізуючи широкий спектр пробіотичних мікроорганізмів [2, 13], ми підібрали пробіотичні бактерії роду *Bacillus* та *Enterococcus faecium*, які у складі препарату вводять у корми, вони пригнічують ріст патогенних грибів, розщеп-

люють та знезаражують мікотоксини, а також сприяють відновленню мікрофлори кишечника при токсикозі. При бактеріальних розладах препарат пригнічує патогенну мікрофлору, сорбує та знезаражує бактеріальні токсини.

Попередні дослідження щодо визначення токсичності препаратів [17, 25, 26] дали можливість використати альтернативний метод дослідження токсичності препарату "Біомагн" на інфузоріях. Так, на першому етапі провели орієнтовне пришвидшене оцінювання токсичності препарату "Біомагн", встановили нешкідливість засобу. Отже, цей альтернативний метод застосовують для отримання орієнтовної оцінки токсичності активно діючої речовини, розчинника, наповнювача тощо на стадії розробки чи при зміні технології виробництва; в тих випадках, коли препарату є занадто мало для визначення токсичності на лабораторних тваринах; у разі екологічного тестування пре-

Таблиця 4 – Визначення морфологічного складу крові мишей після введення препарату "Біомагн" ($M \pm m$, $n=12$)

Група	Еритроцити, Т/л		Гемоглобін, г/л		Тромбоцити, Т/л		Гематокрит, %		ШОЕ, мм	
	7-ма	14-та	7-ма	14-та	7-ма	14-та	7-ма	14-та	7-ма	14-та
Норма	8,7–0,5		120–149		730		42–46		1,5–2,0	
1-ша	8,4±0,1	9,6±0,7	116,0±0,2	116,0±0,1	398,0±14,5*	435,0±1,0	36,0±1,4	38,0±0,9	1,0±0,1	1,0±0,2
2-га	8,5±0,2	9,4±0,4	107,0±0,5	114,0±0,2	292,0±18,1	289,0±11,5*	43,0±1,5	43,0±0,2	1,0±0,2	1,0±0,1
3-тя	8,6±0,5	9,4±0,2	114,0±0,3	118,0±0,5*	442,0±12,3	439,0±1,3	49,0±1,7	48,0±0,3	1,0±0,1	1,0±0,2
4-та	8,9±0,1	9,9±0,1	137,0±0,4	133,0±0,3	343,0±27,0	379,0±14,0	43,0±1,4*	46,0±0,8	1,0±0,3	1,0±0,3
5-та	9,3±0,5	10,3±0,2	115,0±0,3	137,0±0,4	455,0±30,1	461,0±25,0	42,0±1,2	46,0±1,3	1,0±0,1	1,0±0,1
Контрольна	9,5±0,2	9,5±0,3	133,0±0,5	130,0±0,1	597,0±1,5	599,0±1,7	37,0±1,3	38,0±0,8	1,0±0,1	1,0±0,3

Примітка. * – відносно показників контрольної групи ($p < 0,05$).

парату, який може становити загрозу для навоколишнього середовища.

Наступний етап наукової роботи щодо визначення гострої токсичності препарату “Біомагн” на лабораторних тваринах підтвердив його нешкідливість. Таким чином, засіб можна застосовувати для тварин і птиці.

ВИСНОВКИ. 1. За результатами досліджень, проведених з метою визначення гострої токсичності препарату “Біомагн”, можна зробити висновок, що цей препарат не токсичний (СОУ 85.2-37-736:2011).

2. Розведення препарату “Біомагн” у різних концентраціях є нешкідливими для найпростіших *Tetrahymena pyriformis*.

3. Під час примусового внутрішньошлункового введення білим мишам препарату “Біомагн” у різних концентраціях приріст живої маси однієї тварини відносно контрольної групи становив: проба № 1 – 2,2 г (9,7 %); проба № 2 – 2,1 г (9,2 %); проба № 3 – 2,4 г (10,6 %); проба № 4 – 3,61 г (15,9 %); проба № 5 – 3,64 г (16,1 %); у контрольній групі – 2,9 г (12,8 %).

Перспективи подальших досліджень – підібрати терапевтичні дози препарату “Біомагн” для курей, а також дослідити його вплив на зміни їх природної резистентності.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Николаенко В. П. Профилактика и лечение инфекционных болезней в птицеводстве / В. П. Николаенко // Птицеводство. – 2016. – № 9. – С. 53–56.
2. Препарат Микосан для аэрозольного применения при выращивании бройлеров / В. П. Николаенко, И. Н. Шестаков, А. Н. Кононов [и др.] // Ветеринария. – 2017. – № 10. – С. 43–45.
3. Evaluation of oxidative stress induction in rats following exposure to silver nanorods / Harikiran Lingabathula, Narsimhareddy Yellu // Toxicology Mechanisms and Methods. – 2017. – No. 27 (4). – P. 272–278. DOI: 10.1080/15376516.2016.1274351.
4. Sulfidation of silver nanoparticles: natural antidote to their toxicity / C. Levard, E. M. Hotze, B. P. Colman [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 2013. – 47 (23). – P. 13440–13448. DOI: 10.1021/es403527n.
5. Сучасний стан систем дезобробки свіжого та відпрацьованого повітря інкубаторію та яєць у процесі їх інкубації / В. О. Бреславець, Б. Т. Стегній, О. О. Стегній, О. В. Павличенко // Вет. медицина. – 2015. – Вип. 100. – С. 17–21.
6. Циновий О. В. Вплив дезінфектантів на клініко-біохімічні та гематологічні показники курчат-бройлерів / О. В. Циновий // Вісн. Полтав. держ. аграр. акад. – 2013. – № 4. – С. 96–99.
7. Вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів [Електронний ресурс] : наказ МОЗ України від 14.12.2009 р. № 944. – Режим доступу : <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z0053-10/>.
8. Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review / Y. Du, X.-T. Lv, Q. Y. Wu [et al.] // Journal of Environmental Sciences. – 2017. – No. 58. – P. 51–63. DOI: 10.1016/j.jes.2017.01.013
9. Гроза В. І. Апробація дезінфікуючого засобу “Аргенвіт” в умовах птахівничого підприємства / В. І. Гроза // Птахівництво. – 2013. – Вип. 69. – С. 82–82.
10. The computational prediction of toxicity / M. D. Barratt, R. A. Rodford // Current Opinion in Chemical Biology. – 2001. – 5, No. 4. – P. 383–388. DOI: 10.1016/S1367-5931(00)00218-0.
11. Доклінічні випробування імуномодуючого препарату “Арселан” на лабораторних мишах / В. Л. Коваленко, А. В. Розумнюк, А. І. Чехун [та ін.] // Наук. вісн. вет. медицини БНАУ. – 2014. – Вип. 13 (108). – С. 111–113.
12. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / [В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.] ; за ред. В. В. Влізла. – Львів : Сполом, 2012. – 764 с.
13. Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on Salmonella population in final ground products / Y. Yeha, P. Purushothamanb, N. Guptab [et al.] // Meat Science. – 2017. – 127. – P. 30–34.
14. Effects of microbicide based on lactic acid and metal nanoparticles on laboratory animals / G. V. Ponomarenko, V. L. Kovalenko, O. V. Ponomarenko, Yu. O. Balackiy // Ukrainian Journal of Ecology. – 2017. – 7 (4). – P. 482–485. DOI: 10.15421/2017_148.
15. Вивчення гострої токсичності бактерицидного засобу на основі ефірних олій / В. Л. Коваленко, В. М. Гаркавенко, Г. В. Пономаренко [та ін.] // Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування. Науково-практичний журнал. – Харків : РВВ ХДЗВА, 2018. – № 1. – С. 102–105.
16. Бондарчук А. І. Вплив дезінфектанту біодсан на організм лабораторних тварин / А. І. Бондарчук, В. Л. Коваленко, А. І. Чехун // Вет. біотехнологія. – 2013. – № 24. – С. 41–45.
17. ГОСТ 12.1.007-76 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности [Электронный ресурс]. – Изменен № 1 ; Переиздан 01.12.81. – М. : Изд-во стандартов, 1982. – 6 с. – Режим доступа : <https://docs.cntd.ru/document/5200233>.
18. Growth rate, transmission mode and virulence in human pathogens / H. C. Leggett, C. K. Cornwallis, A. Buckling, S. A. West // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences. – 2017. – 372 (1719). – P. 20160094. DOI: 10.1098/rstb.2016.0094.
19. Методи визначення та оцінки показників безпеки і якості дезінфікуючих, мийнодезінфікуючих засобів, що застосовуються під час виробництва, збе-

рігання, транспортування та реалізації продукції тваринного походження : метод. рек. / [І. Я. Коцюмбас, О. І. Сергієнко, Л. М. Ковальчик та ін.]. – К., 2010. – 152 с.

20. Acute toxicity studies, antioxidant and in vitro antibacterial activities of extract from the barks of *Riciodendron heudoletti* (Euphorbiaceae) / V. A. Oyono, C. Fokunang, J. P. Assam-Assam [et al.] // *J. Pharmacog. Phytother.* – 2014. – No. 6 (4). – P. 47–53. DOI: 10.5897/JPP2014.0312.

21. Нечипоренко О. Л. Визначення параметрів гострої токсичності дезінфектанту ADG / О. Л. Нечипоренко, А. В. Березовський, О. І. Шкромада // *Наукові горизонти.* – 2020. – № 4 (89). – С. 108–114.

22. Коваленко В. Л. Порівняльне визначення токсичності бактерицидних засобів за показниками гострої токсичності та альтернативних методів / В. Л. Коваленко, А. В. Гнатенко, Г. В. Пономаренко // *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини* : зб. наук. праць ХДЗВА. – Харків, 2012. – Вип. 25, ч. 2. – С. 169–173.

23. Доклінічне вивчення сенсibilізуючої дії лікарських засобів : метод. рек. / [Г. М. Бутенко, О. П. Терешіна, Ю. М. Максимов та ін.]. – К., 2002. – 27 с.

24. Differentiating between testicular toxicity and sexual immaturity in ortho-phthalaldehyde inhalation toxicity studies in rats and mice / N. R. Catlin, C. J. Willson, D. M. Creasy // *Toxicologic Pathology.* – 2018. – **46** (7). – P. 753–763. DOI: 10.1080/08958378.2017.1390015.

25. Коцюмбас І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега. – Львів, 2006. – 360 с.

26. Препарати ветеринарні. Визначення гострої токсичності: СОУ 85.2-37-736:2011. [Чинний від 2011-05-01]. – К. : Мінагрополітики України, 2011. – С. 16.

27. Нечипоренко О. Л. Визначення параметрів гострої токсичності нового дезінфікуючого засобу “ДезСан” / О. Л. Нечипоренко, Л. Г. Улько, Т. І. Фотіна // *Науковий вісник ветеринарної медицини* : зб. наук. праць. – Біла Церква, 2018. – Вип. 1 (140). – С. 108–116.

28. Evaluation of acute toxicity of the “Orgasept” disinfectant / V. L. Kovalenko, G. V. Ponomarenko, M. D. Kukhtyn [et al.] // *Ukrainian Journal of Ecology.* – 2020. – **10** (4). – P. 273–278. DOI: 10.15421/2020_199.

29. Коваленко В. Л. Методичні підходи щодо контролю дезінфікуючих засобів для ветеринарної медицини : монографія / за ред. В. Л. Коваленко, В. В. Недосекова. – К. : ДНДІЛДВСЕ, 2011. – 224 с.

30. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації : метод. рек. / М. Г. Проданчук, П. Г. Жмілько, Д. В. Зінченко [та ін.] // *Збірник нормативних документів з охорони здоров'я.* – К., 2003. – № 8 (31). – С. 149–168. – Режим доступу : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0356282-03#Text>.

31. Кучерук М. Д. Вплив профілактичних біопрепаратів на збереженість та мікробіоценоз кишечника курчат / М. Д. Кучерук, Д. А. Засєкін // *Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія : Ветеринарні науки.* – 2019. – **21**, № 94. – С. 44–50.

REFERENCES

1. Nikolaenko, V.P. (2016). Profilaktika i lechenie infektsionnyh bolezney v ptitsevodstve [Prevention and treatment of infectious diseases in poultry farming]. *Ptitsevodstvo – Poultry Farming*, 9, 53-56 [in Russian].

2. Nikolaenko, V.P., Shestakov, I.N., Kononov, A.N., Ozheredova, N.A., Mihajlova, A.V., & Shhedrov, I.N. (2017). Preparat Nikosan dlya aerezolnogo primeneniya pri vyrashchivanii broylerov [Nikosan for aerosol use when growing broilers]. *Veterinariya – Veterinary*, 10, 43-45 [in Russian].

3. Harikiran Lingabathula, & Narsimhareddy Yellu. (2017). Evaluation of oxidative stress induction in rats, following exposure to silver nanorods. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27 (4), 272-278. DOI: 10.1080/15376516.2016.1274351.

4. Levard, C., Hotze, E.M., Colman, B.P., Dale, A.L., Truong, L., Yang, X.Y., Bone, A.J., et al. (2013). Sulfidation of silver nanoparticles: natural antidote to their toxicity. *Environ. Sci. Technol.*, 47 (23), 13440-8. DOI: 10.1021/es403527n.

5. Breslavets, V.O., Stehniy, B.T., Stehniy, O.O., & Pavlychenko, O.V. (2015). Suchasnyi stan system dezobrobky svizhoho ta vidpratsovanoho povitria inkubatoriui ta yaiets u protsesi yikh inkubatsii [The current state of

the systems for the disinfection of fresh and exhaust air of the incubator and eggs in the process of their incubation]. *Veterynarna medytsyna – Veterinary Medicine*, 100, 17-21 [in Ukrainian].

6. Tsinoviy, O.V. (2013). Vplyv dezinfektantiv na kliniko-biokhimichni ta hematolohichni pokaznyky kurchat-broyleriv [Effect of disinfectants on clinical and biochemical and hematological indices of broiler chickens]. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii – Bulletin of the Poltava State Agrarian Academy*, 4, 96-99 [in Ukrainian].

7. Vyvchennia likarskykh zasobiv ta ekspertyzy materialiv doklinichnoho vyvchennia likarskykh zasobiv [Study of medicines and examination of materials of preclinical study of medicines]. *Nakaz MOZ Ukrainy vid 14.12.2009 № 944 – Order of the MH of Ukraine of December 14, 2009, No. 944* [in Ukrainian].

8. Du, Y., Lv, X.-T., Wu, Q.Y., Zhang, D.-Y., Zhou, Y.-T., Peng, L., & Hu, H.-Y. (2017). Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 58, 51-63. DOI: 10.1016/j.jes.2017.01.013.

9. Hroza, V.I. (2013). Aprobatsiia dezinfikiuchoho zasobu “Arhenvit” v umovakh ptakhivnychoho pidpriems-

iva [Approval of the disinfectant “Argentine” in the conditions of the poultry industry]. *Ptakhivnytstvo – Poultry Farming*, 69, 82-82. [in Ukrainian].

10. Barratt, M.D., & Rodford, R.A. (2001). The computational prediction of toxicity. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5 (4), 383-388.

11. Kovalenko, V.L., Rozumniuk, A.V., Chekhun, A.I., Hnatenko, A.V., & Yamtsun, T.S. (2014). Doklinichni vyprobuvannia imunomoduliuichoho preparatu “Arselan” na laboratornykh myshakh. [Preclinical trials of the immunomodulatory drug “Arcelan” on laboratory mice]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny – Scientific Bulletin of Veterinary Medicine*, 13 (108), 111-113 [in Ukrainian].

12. Vlizlo, V.V. (Ed.). *Laboratorni metody doslidzhenia u biologii, tvarynnystv i ta veterinarinii medytsyni: dovidnyk [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: a handbook]*. Lviv: Spolom [in Ukrainian].

13. Yeha, Y., Purushothamanb, P., Guptab, N., Ragnonea, M., Vermab, S.C., & de Melloa, A.S. (2017). Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on Salmonella population in final ground products. *Meat Science*. 127, 30-34. Retrieved from: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.01.001>.

14. Ponomarenko, G.V., Kovalenko, V.L., Ponomarenko, O.V., & Balackiy Yu.O. (2017). Effects of microbicide based on lactic acid and metal nanoparticles on laboratory animals. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7 (4), 482-485. DOI: 10.15421/2017_148.

15. Kovalenko, V.L., Harkavenko, V.M., Ponomarenko, H.V., Ponomarenko, O.V., Ihnatieva, T.M., & Ponomarova, C.A. (2001). Vychennia hostroi toksychnosti bakterytsydnoho zasobu na osnovi efirnykh olii [Study of acute toxicity of a bactericidal agent based on essential oils]. *Veterynariia, tekhnologii tvarynnystva ta pryrodokorystuvannia. Naukovo-praktychnyi zhurnal – Veterinary Medicine, Animal Husbandry Technologies and Nature Management. Scientific and Practical Journal* Kharkiv: RVV KhDZVA, 2018, 1, 102-105 [in Ukrainian].

16. Bondarchuk, A.I., Kovalenko, V.L., & Chekhun, A.I. (2013). Vplyv dezinfektantu biyodsan na orhanizm laboratornykh tvaryn [Effect of disinfectant biosan on the body of laboratory animals]. *Veterynarna biotekhnologhiia – Veterinary Biotechnology*, 24, 41-45 [in Ukrainian].

17. (1982). *GOST 12.1.007-76 Vredniye veshchestva. Klassyfikatsiya i obshchye trebovaniya bezopasnosti [Harmful substances. Classification and general safety requirements]*. Moscow: Izd-vo standartov [in Russian].

18. Leggett, H.C., Cornwallis, C.K., Buckling, A., & West, S.A. (2017). Growth rate, transmission mode and virulence in human pathogens. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 372 (1719), 20160094. DOI: 10.1098/rstb.2016.0094.

19. Kotsymbas, I.Ya., Serhienko, O.I., & Kovalchuk, L.M. (2010). *Metody vyznachennia ta otsinky pokaznykiv bezpeky i yakosti dezinfikuiuchykh, mynodezinfikuiuchykh zasobiv, shcho zastosovuiutsia pid chas vyrobnytstva, zberihannia, transportuvannia ta realizatsii produktsii tvarynnoho pokhodzhennia: metodychni rekomendatsii [Methods for determining and evaluating the safety and quality of disinfectants, disinfectants used in the production, storage, transportation*

and sale of products of animal origin: guidelines]. Kyiv [in Ukrainian].

20. Oyono, V.A., Fokunang, C., & Assam-Assam, J.P. (2014). Acute toxicity studies, antioxidant and in vitro antibacterial activities of extract from the barks of *Riciodendron heudoletti* (Euphorbiaceae). *J. Pharmacog. Phytother.*, 6 (4), 47-53. DOI: 10.5897/JPP2014.0312.

21. Nechiporenko, O.L., Berezovskij, A.V., & Shkromada, O.I. (2020). Vyznachennia parametriv hostroi toksychnosti dezinfikuiuchoho zasobu ADH [Determination of parameters of acute toxicity of disinfectant ADG]. *Naukovi horyzonty – Scientific Horizons*, 4 (89), 108-114 [in Ukrainian].

22. Kovalenko, V.L., Gnatenko, A.V., & Ponomarenko, G.V. (2012). Porivnialne vyznachennia toksychnosti bakterytsydneykh zasobiv za pokaznykamy hostroi toksychnosti ta alternatyvnykh metodiv [Comparative determination of the toxicity of bactericidal agents on the indicators of acute toxicity and alternative methods]. *Problemy zoonzhenerii ta vet. medytsyny: zb. nauk. prats HDZVA – Problems of Zooengineering and Veterinary Medicine: Coll. of Scien. Works*, 25 (2), 169-173 [in Ukrainian].

23. Butenko, H.M., Tereshina, O.P., & Maksymov, Yu.M. (2002). *Doklinichne vyvchennia sensybilizuiuchoi dii likarskykh zasobiv [Preclinical study of sensitizing effects of drugs]*. Kyiv [in Ukrainian].

24. Catlin, N.R., Willson, C.J., Creasy, D.M., Rao, D.B., Kissling, G.E., McIntyre, B.S., & Wyde, M. (2018). Differentiating between testicular toxicity and sexual immaturity in ortho-phthalaldehyde inhalation toxicity studies in rats and mice. *Toxicologic Pathology*, 46 (7), 753-763. DOI: 10.1080/08958378.2017.1390015.

25. Kotsymbas, I.Ya., Malik, O.G., & Paterega, I.P. (2006). *Doklinichni doslidzhenia veterynarnykh likarskykh zasobiv [Pre-clinical studies of veterinary medicines]*. Lviv: Triada plyus [in Ukrainian].

26. (2011). *Preparaty veterynarni. Vyznachennia hostroi toksychnosti. [Veterinary drugs. Determination of acute toxicity]*. SOU 85.2-37-736:2011. Kyiv: Minahropolityky Ukrainy [in Ukrainian].

27. Nechiporenko, O.L., Ulko, L.G., & Fotina, T.I. (2018). Vyznachennia parametriv hostroi toksychnosti novoho dezinfikuiuchoho zasobu “DezSan” [Determination of the parameters of acute toxicity of the new disinfectant “DezSan”]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi med. Zb. nauk. prats – Bulletin of Veterinary medicine. Collection of Scient. Works*, 108-116. Bila Tserkva [in Ukrainian].

28. Kovalenko, V.L., Ponomarenko, G.V., Kukhtyn, M.D., Paliy, A.P., Bodnar, O.O., Rebenko, H.I., Kozytska, T.G. et al. (2020). Evaluation of acute toxicity of the “Orgasept” disinfectant. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2020, 10 (4), 273-278. DOI: 10.15421/2020_199.

29. Kovalenko, V.L., & Nedosiekov, V.V. (2011). *Metodychni pidkhody shchodo kontroliu dezinfikuiuchykh zasobiv dlia veterynarnoi medytsyny. [Methodological approaches to the control of disinfectants for veterinary medicine]*. Kyiv [in Ukrainian].

30. Prodanchuk, M.H., Zhminko, P.H., & Zinchenko, D.V. (2003). Doslidzhenia imunotoksychnoi dii potentsiino nebezpechnykh khimichnykh rehovyn pry yikh hihienichnii rehlamentatsii: Metodychni rekomendatsii [Research of immunotoxic action of potentially dangerous chemicals at their hygienic regulation: Methodical recommendations]. *In-t ekohihieny i toksykologii*

im. L.I. Medvedia MOZ Ukrainy. Zbirnyk normatyvnykh dokumentiv z okhorony zdorovia, 8 (31), 149-168. [in Ukrainian].

31. Kucheruk, M.D., & Zasyekin, D.A. (2019). Vplyv profilaktichnykh biopreparativ na zberezenist ta mikrobiotsenoz kyshechnyka kurchat [Influence of prophylactic biologicals on the preservation and microbiocenosis of

the intestines of chickens]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universitetu veterynarnoi medytsyny ta biotehnologii imeni S. Z. Gzhickogo. Seriya: Veterynarni nauky – Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z. Gzhitsky. Series: Veterinary Sciences*, 21 (94), 44-50 [in Ukrainian].

O. M. Chechet¹, V. L. Kovalenko², O. S. Haidei¹

STATE RESEARCH INSTITUTE FOR LABORATORY DIAGNOSTICS AND VETERINARY AND SANITARY EXAMINATION¹, KYIV
STATE SCIENTIFIC AND CONTROL INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY AND STRAINS OF MICROORGANISMS², KYIV

PRECLINICAL TESTS OF BIOMAGN DRUG ON THE LABORATORY ANIMALS AND WITH THE USE OF CULTURE INFUSOR *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

Summary

Introduction. The toxicological control of the veterinary drugs prevents possible metabolic disorders, negative effect for organs and tissues, the occurrence of side effects and long-term consequences, creates the preconditions for determining the optimal therapeutic doses, methods and timing of application, ways and time of excretion from the body, which in turn contributes to development of new highly effective competitive drugs.

The aim of the study – to carry out preclinical tests of Biomagn test drug: determine immediate toxicity and possible toxicity of the drug at a single introduction into the body of animals and determine toxic and lethal doses.

Research Methods. Product toxicity and harmfulness were evaluated in tests on the simplest test organisms *Tetrahymena pyriformis* and laboratory animals (white mice). The study of Biomagn immediate toxicity was carried out on white non-bred non-linear mice weighing (22.5±0.2) g, which were fed with standard granule food according to feeding norms. The toxicological examinations were performed according to the monograph "Preventive Studies of Veterinary Medicinal Products" (I. Y. Kotsyumbas and others, 2006) and COU 85.2-37-736:2011 "Veterinary Medicinal Products. Determination of acute toxicity". To determine the degree of cumulation of the test agent we used method by Y. S. Kagan and V. V. Stankevich.

Results and Discussion. Studies have established that Biomagn immunomodulatory drug based on magnesium chloride, chitosan, a mixture of probiotic bacteria and enzymes does not exhibit toxic properties when interacting with ciliates for 30 minutes, since 100 % of the vital activity of the tetrachimene culture remains, as in control tubes. According to the research results, it was found that the acute toxicity in laboratory animals of Biomagn, is LD50 – 5000 mg/kg of animals live weight. During the clinical observation of the research groups of animals, no deviations were found in each group, the skin was smooth, shiny, there was no refusal of feed, no disturbances in the functioning of the gastrointestinal tract and the central nervous system were found in one of the groups, deaths and diseases were not observed. The immunomodulatory drug has no harmful effect, and stimulates the improvement of metabolism, which in turn contributes to an increase in the weight of animals. The hematological parameters of the peripheral blood of mice did not change significantly during the use of the drug. All indicators were within the physiological norm and remained so until the end of the experiment, indicating the safety and non-toxicity of the investigated agent. According to the established signs, the drug belongs to the 4-th class of hazard. Composition of a mixture of probiotic bacteria *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecium* and dried fermentation products of microorganisms *Lactococcus Lactis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, magnesium chloride, chitosan, which ensures the normalization of the metabolism of animals, affects the increase in the general resistance of the body, stimulates the work of the digestive system.

Conclusions. According to the results of research carried out with the purpose of determining Biomagn toxicity we can conclude that this medicine is non-toxic (SOU 85.2-37-736:2011). Synthesis of Biomagn in different concentrations is non-toxic for the simplest *Tetrahymena pyriformis*.

KEY WORDS: immunomodulatory; white mice; magnesium chloride; ferments; probiotic bacteria; acute toxicity; *tetrahymena pyriformis*.

Отримано 22.09.21

Адреса для листування: В. Л. Коваленко, Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, вул. Донецька, 30, Київ, 03151, Україна, e-mail: kovalenkodoktor@gmail.com.