

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА

БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПРОДУКТОВ, КОРМОВ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

В.А. Долгов¹, С.А. Лавина¹, С.С. Козак²,
Д.В. Никитченко³

¹ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии
Звенигородское шоссе, 5, Москва, Россия, 123022

²ВНИИ птицеперерабатывающей промышленности
п.о. Ржавки, Солнечногорский район, Московская область, Россия, 141552

³Кафедра морфологии животных и ветеринарно-санитарной экспертизы
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

В статье рассматриваются возможные аспекты и приводятся примеры применения ускоренных методов биологической оценки качества и безопасности продуктов, кормов и различных объектов окружающей среды с использованием инфузорий Тетрахимена пириформис.

Ключевые слова: биологическая оценка, Тетрахимена пириформис, продукты, корма, объекты окружающей среды.

Биотестирование (биологическая оценка) продовольственного сырья и продуктов питания, кормов, а также различных объектов окружающей среды (воды, воздуха, почвы, полимерных и строительных материалов и др.) занимает, наряду с другими методами исследований (физико-химическими, биохимическими, микробиологическими), одно из важнейших мест, так как позволяет выявить влияние изучаемых объектов на живой организм и определить возможные неблагоприятные последствия их применения.

Различные аналитические методы исследований имеют целью установить наличие тех или иных пищевых компонентов (белков, жиров, углеводов, витаминов и др.), а также ксенобиотиков естественного и антропогенного происхождения без выявления их биологической эффективности и возможного влияния на нее всей совокупности веществ, содержащихся в продукте. В то же время биологический анализ позволяет выявить действие пищевых и непищевых компонентов в их взаимосвязи и взаимозависимости и получить интегральное выражение этого воздействия в виде реакции живого организма.

Поскольку применение для этих целей высших животных нередко бывает затруднительно или даже невозможно по целому ряду причин (методических, экономических, этических), во всем мире наблюдается тенденция к их максимально возможной замене альтернативными живыми моделями (растениями, культурами тканей, беспозвоночными, микроорганизмами и др.), среди которых несомненный интерес представляют простейшие — инфузории *Тетрахимена пириформис*, имеющие сходство с высшими животными по ряду основных параметров обмена веществ, что дает возможность межвидовой экстраполяции результатов анализа [1—3].

Преимуществом использования данного тест-организма является быстрота анализа, его относительная простота и дешевизна, высокая чувствительность к алиментарным и токсическим факторам и наглядность в проявлении биологического эффекта; особенно продуктивно применение инфузорий при скрининговых исследованиях, что дает возможность ориентировочной оценки большого количества испытуемых проб. Нами показано, что привлечение современных приборных измерительных средств в сочетании с тест-организмом, выполняющим роль биологического индикатора, позволяет существенно повысить производительность, информативность и методические возможности анализа [4].

Для получения более объективной и достоверной информации в качестве тестируемых функций можно использовать совокупность различных проявлений жизнедеятельности *тетрахимен*, в которую входит выживаемость простейших, их поведенческая и ростовая реакции, длительность лаг-фазы, характер кривой роста популяции, размер клеток, количество выросшей биомассы, коэффициенты эффективности и использования белка, длительность жизни культуры, красительсвязывающая способность клеток, функциональные характеристики (степень подвижности, характер движения), биохимические показатели (содержание сухого вещества, азота, белка, аминокислот и других компонентов, активность ферментов).

Изучение биохимических показателей тест-организмов дает возможность ориентировочной групповой идентификации токсикантов, что показано нами при изучении влияния фосфорорганических (ДДВФ, циодрин, карбофос), хлорорганических (линдан, ДДТ) и пиретроидных (перметрин, циперметрин, дельтаметрин) пестицидов на активность 1-нафтилацетатэстеразы, щелочной фосфатазы и оксидазы инфузорий *тетрахимен*. Предложены соответствующие методические приемы, позволяющие осуществлять регистрацию и измерение данных тест-функций, изложенные в разработанных нами ускоренных методах определения безвредности и биологической ценности продовольственного сырья, продуктов питания, кормов и объектов окружающей среды (природных и сточных вод, почвы, воздуха, полимерных и строительных материалов), в том числе с использованием автоматизированных измерительных средств, утвержденных Департаментом ветеринарии МСХ РФ, Отделением ветеринарной медицины РАСХН, а также медицинскими учреждениями, которые широко используются в научно-исследовательских и производственных лабораториях [5—11].

Многолетний опыт применения инфузорий *Тетрахимена пириформис* для оценки качества и безопасности продуктов, кормов и различных объектов окру-

жающей среды позволяет определить основные направления исследований, которые имеют как научное, так и практическое значение. Это определение возможной токсичности и биологической (питательной) ценности кормов, используемых в животноводстве и птицеводстве; определение качества и безопасности мяса и мясопродуктов, в том числе с измененными ветеринарно-санитарными и технологическими качествами; изучение влияния тех или иных технологических приемов при производстве готовых продуктов питания на их биологическую ценность; токсико-биологическая оценка мясопродуктов, тушек птицы и яиц при их обработке различными бактерицидными средствами для продления сроков годности; изучение токсичности строительных и полимерных материалов, используемых в сельском хозяйстве, а также в пищевом производстве (колбасные оболочки, упаковка и др.); определение степени возможного вредного воздействия органических отходов животноводческих и птицеводческих предприятий на окружающую природную среду при непосредственном или опосредованном воздействии на нее.

При оценке токсичности кормов, используемых в животноводстве и птицеводстве, в течение короткого промежутка времени (до 3-х часов) возможно выявить их безопасность и предотвратить негативное влияние на организм сельскохозяйственных животных. Кроме того, можно определить оптимальный уровень включения тех или иных компонентов корма в состав кормосмеси, обеспечивающий максимальную анаболическую эффективность рациона и, соответственно, продуктивность животных. В особенности это касается применения различных биологически активных добавок.

С помощью биологической оценки можно определить наиболее эффективную технологию обработки кормов для повышения их биологической полноценности, что можно видеть на примере кормовой биомассы одноклеточных (дрожжей, бактерий, микроводослей), подвергнутых различным видам деструкции (дезинтеграции).

В данном случае биотестирование занимает основное место при качественной оценке данных кормов, поскольку химический состав биомассы и содержание в ней основных пищевых компонентов при деструкции не меняется. К тому же на первом этапе исследований, когда необходимо определить наиболее эффективный с биологической точки зрения способ клеточного разрушения, количество получаемого деструктата может быть незначительным, а число различных вариантов обработки — большим, что делает невозможным эксперименты на высших животных.

С помощью биотестовых методов нами были определены наиболее эффективные способы клеточного разрушения: для дрожжей — баллистическая дезинтеграция, обработка на кавитационной мельнице и экструзия, повышающие относительную биологическую ценность, соответственно, на 87,5, 54,5 и 50,6%; для бактерий — декомпрессионный шок, увеличивающий этот показатель на 21,9%; для микроводорослей (хлорелла) — ферментная деструкция, повышающая биологическую ценность биомассы на 23,5—55,8%.

Использование тетрахимен позволило также установить оптимальный уровень замены протеина ячменя на протеин хлореллы в составе откормочного рацио-

на подсвинок (10—15%), приводящий к возрастанию биологической ценности кормовой смеси на 60%, и в итоге при проведении опыта на сельскохозяйственных животных получить положительные результаты откорма.

Биотестирование является чувствительным индикатором при оценке мясного сырья, полученного от животных, подвергнутых различным заболеваниям, которые, как правило, ведут к снижению биологической ценности получаемой продукции, что необходимо учитывать при ее пищевом использовании. Так, к примеру, нами установлено, что при псевдомонозе относительная биологическая ценность мяса бройлеров снижается на 8,9% по сравнению с мясом здоровых животных, при листериозе — на 9,8—10,7%. Это свидетельствует о том, что и качество производимой продукции из подобного сырья будет более низким, что требует поиска соответствующих путей технологической реализации такого мяса, позволяющих минимизировать снижение его биологической полноценности в составе готового продукта.

Крайне важным является использование биологической оценки при исследовании мяса и мясопродуктов, полученных от сельскохозяйственных животных, подвергавшихся лечению различными лекарственными средствами (фармпрепаратами). Это связано с тем, что при их биотрансформации в организме могут образовываться более токсичные, чем исходное вещество, соединения, не обнаруживаемые существующими физико-химическими методами анализа, которые не позволяют к тому же судить о степени токсичности метаболитов.

Так, нами установлено, что если нативный фуразолидон начинал ингибировать рост тетрахимен при его содержании в среде 0,35 мкг/мл, то остатки препарата в печени животных оказывали аналогичное действие в концентрации 0,011 мкг/мл, то есть в 30 с лишним раз более низкой.

Совершенно очевидно, что такая резко возросшая токсичность может быть связана с биотрансформацией фуразолидона, которая, в частности, сопровождается восстановлением нитрогруппы у фуранового кольца до аминогруппы с ее последующим ацелированием. Выявить данный эффект можно только с помощью соответствующей биопробы на тест-организме.

В то же время некоторые фармпрепараты (например, транквилизаторы) иногда рекомендуют использовать не только в лечебных целях и при различных технологических операциях в животноводстве и птицеводстве, но и для снижения потерь массы тела при транспортировке животных на перерабатывающие предприятия, в результате чего продукты убоя могут представлять потенциальную опасность для здоровья потребителя. Нами установлено, что мясо кур, получавших для снятия транспортного стресса аминазин, возможность практического применения которого изучалась в конце 70-х гг. прошлого века в НПО «Комплекс», и содержащее остаточные количества этого препарата (0,1—0,3 мг/кг мышечной ткани), подавляет ростовую реакцию тетрахимен на 15—20% по сравнению с контролем. Данная концентрация транквилизатора может сохраняться в органах и тканях птицы в течение нескольких дней, что свидетельствует о недопустимости его применения за 1—2 суток перед убоем.

Большое значение имеет биотестирование при выборе тех или иных технологий производства готовых продуктов питания из мяса, в частности, температурных режимов обработки, включения в состав мясопродуктов различных добавок, в том числе растительного происхождения, и т.д.

Биологическая оценка дает возможность находить пути рационального использования мясного сырья и предотвращать снижение качества готовых изделий. Нами установлено, что варка колбас при обычных температурных режимах повышает их относительную биологическую ценность по сравнению с сырым фаршем на 16—24%, что свидетельствует об улучшении доступности белков мяса для усвоения.

В то же время более жесткие и длительные температурные воздействия, а также определенные условия хранения могут снижать биологическую полноценность продуктов. Например, при изготовлении некоторых мясопродуктов предусматривается образование в них мелаидинов как необходимого компонента, создающего специфические органолептические показатели (цвет, запах, вкус). Данные соединения, представляющие собой результат взаимодействия активных ϵ -аминогрупп некоторых аминокислот с карбонильными группами редуцирующих сахаров, снижают усвояемость протеина и ингибируют протеолитические ферменты (протеазы не взаимодействуют с белками, у которых блокированы реактивные участки аминокислот). Нами показано, что тетрахимены отличаются высокой чувствительностью к данным веществам, которые могут существенно снижать рост простейших и степень усвоения ими белка.

Так, при биологической оценке лиофилизированного мяса пропорционально увеличению содержания в нем мелаидинов (что достигалось изменением температурных условий его хранения) установлено снижение ростовой реакции инфузорий и степени усвоения ими азота (соответственно на 46,4 и 51,4%). Полученные данные были подтверждены и в опытах на крысах при определении коэффициентов эффективности и использования белка (КЭБ, КИБ), что свидетельствует о сходстве ферментных систем высших животных и инфузорий, связанных с протеолизом и усвоением белков.

Поскольку процесс мелаидинообразования может происходить во многих продуктах и кормах при воздействии на них различных факторов (высокой температуры, влажности, длительности хранения и др.), то применение ускоренных методов биологической оценки с помощью тетрахименов для текущего контроля их качества является крайне актуальным.

Большое научное и практическое значение имеет применение биотестовых методов при создании комбинированных продуктов питания, в которых белки животного происхождения частично заменяются растительными. При разработке их рецептур биологическая оценка позволяет определить как наиболее полноценный заменитель, так и уровень его включения в состав продукта, не приводящий к снижению качества последнего.

Использование высших животных в данном случае затруднительно из-за большого объема предварительных исследований и является целесообразным

лишь на заключительном этапе работ при биологической оценке готового изделия. Так, при изучении возможности применения соевых белков в качестве заменителей мяса в составе колбасных изделий нами с помощью инфузорий тетрахимен из 23 соевых препаратов (изолятов, концентратов, соевой муки) были выбраны наиболее биологически полноценные и определен оптимальный уровень их включения в состав колбасных изделий. Показано, что использование сои в рецептуре мясных продуктов в количестве 2—5% может как повышать их биологическую ценность на 10,8—22,3%, так и снижать их качество в зависимости от вида и сорта колбасных изделий. Установить это можно лишь опытным путем при проведении соответствующих экспериментов с использованием тест-организмов.

При биологической оценке сырья и продукции с измененными ветеринарно-санитарными и технологическими качествами применение биотестовых методов позволяет быстро получить информацию, необходимую для решения вопросов, связанных с их пищевой реализацией.

Одним из примеров может служить мясо с измененным рН, значения которого выходят за установленные ветеринарно-санитарными правилами границы (5,7—6,2), характеризующие доброкачественную продукцию. В то же время, по нашим данным, этим требованиям соответствует лишь 30,0—33,4% мяса крупного рогатого скота, а 60—70% его имеет рН в пределах 6,3—6,7. Сходная картина наблюдается и в отношении мяса свиней, рН которого нередко бывает ниже 5,7. Изменения рН могут быть связаны с органолептическими пороками сырья (PSE, DFD), хотя этот вопрос является довольно сложным и неоднозначным.

При биотестировании мяса крупного рогатого скота нами установлено, что по мере возрастания его рН с 5,33 до 6,69 увеличивается и биологическая ценность — на 7,4—20,7%, что может объясняться лучшей протеолитической доступностью белков при той степени автолиза, которая соответствует более высоким значениям рН, а также меньшими потерями водорастворимых белков.

Проведенные нами исследования качества быстрозамороженных комбинированных полуфабрикатов в связи с характером автолиза мясного сырья показали, что продукты, изготовленные из мяса с высоким рН, на 17% превосходили по биологической ценности полуфабрикаты из мяса с более низким рН, а при варке это различие возрастало до 38%. Кроме того, экспериментально было подтверждено также увеличение сроков качественного хранения замороженных полуфабрикатов с разным уровнем замены мяса белково-молочными концентратами, соевым изолятом и комбинацией указанных белков, если эти полуфабрикаты изготавливались из мяса с высоким рН.

Более сложной задачей является технологическая реализация мяса с низким рН (5,2—5,5), которое часто встречается у свиней (так называемое «экссудативное» мясо) и характеризуется низкой влагоудерживающей способностью, грубой волокнистой структурой и специфическим запахом.

Нами изучена возможность использования такой свинины для изготовления ветчины в форме с применением различных добавок (гидролизатов соединительной ткани, ферментных препаратов, стабилизированной пищевой крови), опти-

мальная концентрация которых в продукте устанавливалась на основании его органолептических показателей и биологической ценности.

Установлено, что лучшим вариантом является стабилизированная пищевая кровь, существенно улучшающая органолептику готового изделия. С помощью биотестирования была определена оптимальная концентрация этой добавки в рассоле (5%), повышающая биологическую ценность ветчины на 12,5% и приближающая ее к таковой продукта из нормального мяса; более высокий уровень вводимой крови (10 и 15%) приводил к ухудшению качества изделия.

Небезынтересно отметить, что усвояемость белков самой крови довольно низкая (относительная биологическая ценность составляет 23,2% по сравнению с казеином), в то время как ее сочетание в определенных пропорциях с экссудативной свиной приводит к возрастанию биологической ценности продукта с 70,3 до 79,1.

Этот обогатительный эффект, который может быть установлен только с помощью биологической оценки, может быть связан с улучшением качественного состава белков мяса, характеризующегося, в частности, пониженным содержанием миоглобина, а также обусловлен влиянием различных компонентов крови (микроэлементов и др.).

Перспективно применение инфузорий тетрахимен при оценке качества и безопасности мясопродуктов, тушек цыплят-бройлеров и яиц, подвергнутых обработке растворами различных технологических вспомогательных средств для обеззараживания поверхности и увеличения сроков годности продукции, а также при использовании различных антимикробных покрытий (полимерных, на основе ПАВ и др.).

В результате проведенных нами исследований мяса тушек цыплят-бройлеров, обработанных дезинфицирующим раствором надуксусной кислоты, не установлено его отрицательного влияния на ростовую реакцию тетрахимен, что свидетельствует об отсутствии токсичности.

Аналогичная картина была получена и при использовании антимикробных покрытий на основе биоприоритетных поверхностно-активных веществ. Тем не менее, не всегда рекомендуемые для использования в пищевом производстве полимеры могут быть безвредными, что показано нами при биотестировании ряда опытных полимерных оболочек для колбас, которые при внесении их в водную среду с инфузориями вызывали гибель простейших. Это свидетельствовало о наличии в оболочках водорастворимых токсических веществ. При этом последние проникали даже в поверхностный слой готовых колбасных изделий (до 1—2 мм), что проявлялось в снижении ростовой реакции тетрахимен при биологической оценке продуктов.

Установлена высокая чувствительность разработанных нами биотестовых методов при определении токсичности сточных вод сельскохозяйственных и перерабатывающих предприятий, а также различных строительных и полимерных материалов (фосфогипса с фенолформальдегидной и эпоксидной смолами, многослойного пластика, многослойного пластика с латексом, битума и др.), причем результаты экспериментов на тетрахименах коррелировали с данными, полученными общепринятым методом с использованием рыб гуппи.

Биотестирование является экспериментальным методом, позволяющим установить степень возможного вредного воздействия органических отходов животноводческих и птицеводческих предприятий на окружающую природную среду при непосредственном или опосредованном воздействии на нее. Оно является необходимым условием при отнесении отходов к классу опасности для окружающей среды. Поскольку органические отходы животноводческих и птицеводческих предприятий (навоз, помет) являются сложной многокомпонентной системой, состоящей из соединений органической природы (углеводы, клетчатка, азотсодержащие соединения и др.), использование расчетных методов является затруднительным и малопродуктивным. Здесь следует использовать методы, основанные на биотестировании водной вытяжки отходов.

В результате проведенных нами исследований на инфузориях тетрахименах установлено, что водные вытяжки из различных видов органических отходов животноводства и птицеводства (навоз, помет) и их форм (свежие и перепревшие отходы) не оказывают отрицательного воздействия на жизнедеятельность тест-организмов в разведении 1 : 1.

В опытах на инфузориях не выявлено ингибирующего влияния на их выживаемость, подвижность, характер движения, генеративную и хемотаксическую реакции, морфологические и биохимические показатели. При определении возможной мутагенности водной вытяжки из отходов с использованием длительной инкубации культуры простейших и сред выживания не обнаружено наличия мутантных форм тетрахименов, что свидетельствует об отсутствии мутагенного эффекта.

Исходя из того, что к 5 классу опасности относятся отходы, которые не оказывают вредного воздействия на тест-объекты в разведении 1 : 1, органические отходы животноводческих и птицеводческих предприятий можно отнести к данному классу (практически не опасные), степень вредного воздействия которых на окружающую природную среду (ОПС) очень низкая.

Полученные нами данные о том, что органические отходы являются практически неопасными, объясняется тем, что они состоят из компонентов органического происхождения, то есть веществ, встречающихся в живой природе, которые относятся к классу практически неопасных компонентов со средним баллом (X_i), равным 4, и, следовательно, коэффициентом степени опасности для ОПС (W_i), равным 1Е6.

Кроме того, данные органические соединения обладают способностью к биодеградации, подвергаясь разложению под воздействием микроорганизмов, поэтому процессы компостирования навоза или помета делают их практически безвредными для окружающей природной среды.

Таким образом, применение методов биологического тестирования с использованием инфузорий Тетрахимена пириформис в сочетании с химико-аналитическими методами дает возможность более полной и достоверной оценки качества и безопасности продуктов, кормов, а также различных объектов окружающей среды, что имеет как научное, так и практическое значение.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Долгов В.А. Методические аспекты и практическое применение ускоренной биологической оценки кормов, продуктов животноводства и других объектов ветеринарно-санитарного и экологического контроля: Дисс. ... докт. вет. наук. М., 1992.
- [2] Игнатьев А.Д., Шаблюй В.Я. Использование инфузории тетрахимены пириформис как тест-объекта при биологических исследованиях в сельском хозяйстве. М.: ВАСХНИЛ, 1978.
- [3] Лавина С.А. Биотесты на основе ферментных систем для оценки токсического действия ксенобиотиков на объекты ветеринарно-санитарного и экологического контроля: Дисс. ... докт. биол. наук. М., 2002.
- [4] Методические рекомендации «Использование инфузорий (Тетрахимена пириформис) в качестве тест-культуры в приборе «Биотестер-2» (экспресс-метод). М.: Государственное лечебно-оздоровительное объединение, 1991.
- [5] Автоматизированный метод определения токсичности продуктов животноводства, кормов и объектов окружающей среды (методические рекомендации). М.: РАСХН, 2006.
- [6] Методические рекомендации для использования экспресс-метода биологической оценки продуктов и кормов. М.: ВАСХНИЛ, 1990.
- [7] Методические рекомендации по ускоренной оценке токсичности воздуха на объектах ветеринарно-санитарного и экологического контроля. М.: РАСХН, 2008.
- [8] Методические рекомендации по определению токсичности полимерных и строительных материалов сельскохозяйственного назначения. М.: РАСХН, 2008.
- [9] Методические указания по использованию инфузорий *Tetrahymena pyriformis* в качестве тест-культуры в приборе «Биотестер-2». М.: Департамент ветеринарии МСХ РФ, 2000, № 13-7-2/2157.
- [10] Методические указания по ускоренному определению токсичности продуктов животноводства и кормов. М.: Департамент ветеринарии МСХ РФ, 2000, № 13-7-2/2156.
- [11] Методическое пособие по биотестовой оценке качества и безопасности различных объектов ветеринарно-санитарного и экологического контроля. М.: РАСХН, 2010.

BIOTESTING FEED, FOOD AND ENVIRONMENT OBJECTS

V.A. Dolgov¹, S.A. Lavina¹, S.S. Kozak²,
D.V. Nikitchenko³

¹All-Russian Scientific and Research Institute
Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology
Zvenigorodsky highway, 5, Moscow, Russia, 123022

²All-Russian Scientific and Research Institute of poultry industry
Rzhavki, Solnechnogorsk district, Moscow region, Russia, 141552

³Department of morphology of animals and veterinary-sanitary inspection
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

There are discussed the possible aspects and examples of the application of the accelerated methods of biological evaluation of quality and safety of feed, food and various objects of the environment using of ciliates *Tetrahymena pyriformis* in the article.

Key words: biological assessment, *Tetrahymena pyriformis*, food, feed, environmental objects.

REFERENCES

- [1] *Dolgov V.A.* Metodicheskie aspekty i prakticheskoe primeneniye uskorennoy biologicheskoy ocenki kormov, produktov zhivotnovodstva i drugih ob'ektov veterinarno-sanitarnogo i jekologicheskogo kontrol'ya: Diss. ... dokt. vet. nauk. M., 1992.
- [2] *Ignat'ev A.D., Shabliy V.Ja.* Ispol'zovaniye infuzorii tetrahimeny piriformis kak test-ob'ekta pri biologicheskikh issledovaniyakh v sel'skom hoz'jajstve. M.: VASHNIL, 1978.
- [3] *Lavina S.A.* Biotesty na osnove fermentnykh sistem dl'ya ocenki toksicheskogo deystviya ksenobiotikov na ob'ekty veterinarno-sanitarnogo i jekologicheskogo kontrol'ya: Diss. ... dokt. biol. nauk. M., 2002.
- [4] Metodicheskie rekomendacii «Ispol'zovaniye infuzorij (Tetrahimena piriformis) v kachestve test-kul'tury v pribore «Biotester-2» (jekspress-metod). M.: Gosudarstvennoe lechebno-ozdorovitel'noe ob'edineniye, 1991.
- [5] Avtomatizirovannyj metod opredeleniya toksichnosti produktov zhivotnovodstva, kormov i ob'ektov okruzhajushhej sredy (metodicheskie rekomendacii). M.: RASHN, 2006.
- [6] Metodicheskie rekomendacii dl'ya ispol'zovaniya jekspress-metoda biologicheskoy ocenki produktov i kormov. M.: VASHNIL, 1990.
- [7] Metodicheskie rekomendacii po uskorennoj ocenke toksichnosti vozduha na ob'ektah veterinarno-sanitarnogo i jekologicheskogo kontrol'ya. M.: RASHN, 2008.
- [8] Metodicheskie rekomendacii po opredeleniyu toksichnosti polimernykh i stroitel'nykh materialov sel'skhoz'jajstvennogo naznachenija. M.: RASHN, 2008.
- [9] Metodicheskie ukazaniya po ispol'zovaniyu infuzorij Tetrahymena pyriformis v kachestve test-kul'tury v pribore «Biotester-2». M.: Departament veterinarii MSH RF, 2000. № 13-7-2/2157.
- [10] Metodicheskie ukazaniya po uskorennomu opredeleniyu toksichnosti produktov zhivotnovodstva i kormov. M.: Departament veterinarii MSH RF, 2000. № 13-7-2/2156.
- [11] Metodicheskoe posobie po biotestovoj ocenke kachestva i bezopasnosti razlichnykh ob'ektov veterinarno-sanitarnogo i jekologicheskogo kontrol'ya. M.: RASHN, 2010.