

7. Test Method Protocol for the NHK Neutral Red Uptake Cytotoxicity Assay Phase III - Validation Study: November 4, 2003.

8. Dybkova, S.M., Hodovskyi, O. V., Romanko, M.Y et al. Sposib ocinki genotoxychnykh vlastyvostey nanomaterialiv. [Method for evaluation of genotoxic properties of nanomaterials] Patene UA on useful model MPK (2009.01) G01N33/00 G01N33/48 2010.

9. Didenko, V.V. (Eds) (2002). *Methods in Molecular Biology. In Situ Detection of DNA Damage. Methods and protocols*. Totowa: Humana press.

УДК. 577.151:579.864.1

**РИЖЕНКО Г.Ф., ГОРБАТЮК О.І., АНДРІЯЩУК В.А., ЖОВНІР О.М., РУДОЙ О.В.**, канд. вет. наук, e-mail: anaerob12@ukr.net  
**ТЮТЮН С.М.**, e-mail: anaerob12@ukr.net

*Інститут ветеринарної медицини НААН*

**ДИБКОВА С.М., РЕЗНІЧЕНКО Л.С., ГРУЗІНА Т.Г.**, канд. біол. наук,  
e-mail: sdybkova@gmail.com

*Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д.Овчаренка НАН України*

## **ОЦІНКА *IN VIVO* ГЕНОТОКСИЧНОСТІ ТА МУТАГЕННОСТІ МУЛЬТИКОМПОНЕНТНОЇ ВАКЦИНИ «МУЛЬТИБОВІСАН», МОДИФІКОВАНОЇ БІОБЕЗПЕЧНИМИ НАНОЧАСТИНКАМИ АУРУМУ**

*Інтенсивний розвиток індустрії імунобіологічних препаратів, для потреб ветеринарної медицини, передбачає вдосконалення методології тестування на токсичність і включає методи оцінки мутагенності та генотоксичності вакцин. Метою роботи була оцінка *in vivo* генотоксичності та мутагенності мультикомпонентної вакцини «Мультибовісан», модифікованої біобезпечними наночастинками ауруму. Встановлено, що вакцини «Мультибовісан», «Мультибовісан+AuNP (0,5%)», «Мультибовісан+AuNP (1,0%)» є біобезпечними за показниками генотоксичності та мутагенності.*

**Ключові слова:** «Мультибовісан», наночастинки ауруму, генотоксичність, мутагенність, метод ДНК комет, мікроядерний тест, біобезпека.

**Вступ.** На сьогодні, питання створення нових ефективних засобів профілактики та захисту тварин від особливо небезпечних аеробних і анаеробних інфекцій є надзвичайно актуальним. Досягнення нанотехнологій відкривають широкі перспективи застосування наноматеріалів, зокрема наночастинок металів у біотехнологічних схемах виготовлення мультикомпонентних імунобіологічних препаратів. Особливої уваги заслуговують наночастинки ауруму, які, завдяки своїм унікальним властивостям, можуть широко застосовуватися в медицині та ветеринарії, як засоби цільового потрапляння лікарських препаратів до органів-мішеней, для фототермічної терапії, діагностичної візуалізації, та як компоненти імунобіологічних препаратів [1].

Інтенсивний розвиток індустрії імунобіологічних препаратів для потреб ветеринарної медицини передбачає вдосконалення методології тестування

їхньої токсичності. Надзвичайно важливою є розробка комплексу методів оцінки безпечності вакцин для генетичного апарату сільськогосподарських тварин.

Такий комплекс включає методи тестування мутагенності та генотоксичності [2].

**Метою роботи** була оцінка генотоксичності та мутагенності мультикомпонентної вакцини «Мультибовісан», модифікованої біобезпечними наночастинками ауруму *in vivo*.

**Матеріали і методи досліджень.** Наночастинки ауруму були синтезовані в Інституті біологічної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України методом Девіса [3]. Вихідною речовиною слугувала аурумохлористогідрогенова кислота  $H[AuCl_4] \cdot 4H_2O$ . Розмір отриманих наночастинок обчислювали з використанням методу лазерно-кореляційної спектроскопії (ЛКС; Zetasizer-3, «Malvern Instruments Ltd», Великобританія). В роботі були використані наночастинки ауруму з середнім розміром 30 нм у концентрації 38,6 мкг /мл по металу. Такі наночастинки є біобезпечними за показниками генотоксичності, цитотоксичності, мутагенності, впливу на ключові ферменти еукаріотичної клітини та пробіотичні бактерії кишечника людини і тварин [4].

Модифікацію вакцини «Мультибовісан» наночастинками ауруму розміром 30 нм здійснювали шляхом додавання до вакцини нанопрепарату ауруму в кількості 0,5 та 1,0%. Таким чином, було створено зразки «Мультибовісан + AuNP (0,5%)» та «Мультибовісан + AuNP (1,0%)».

Експерименти *in vivo* виконували з дотриманням правил «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях». Для тестування *in vivo* генотоксичності й мутагенності зразків вакцини «Мультибовісан», модифікованої біобезпечними наночастинками ауруму, використовували статевозрілих самців кролів. Обов'язковою умовою була генетична однорідність тварин, відхилення за масою тіла та віком яких на момент експерименту не перевищувати  $\pm 10,0\%$ . Тварин утримували відповідно до діючих санітарних правил щодо устрою, обладнання та вмісту віваріїв, на стандартній дієті, в умовах вільного доступу до води та їжі, світловий режим – 12 годин. Кожна група складалася з 3-х тварин. Всього було три групи тварин: I група – дослідна, вводили зразок препарату вакцини «Мультибовісан + AuNP (0,5%)»; II група – дослідна, вводили зразок препарату вакцини «Мультибовісан + AuNP (1,0%)», III група – контрольна, вводили не модифіковану вакцину «Мультибовісан».

Відповідні зразки вакцин вводили кролям дворазово підшкірно в об'ємі 2 мл відповідно паспорту базового препарату вакцини «Мультибовісан». Відбір органів і тканин здійснювали через два тижні після останнього введення зразків вакцин.

Оцінку генотоксичності зразків модифікованої наночастинками ауруму вакцини «Мультибовісан» *in vivo* здійснювали із застосуванням методу ДНК комет в лужних умовах (лужний гель-електрофорез ізольованих еукаріотичних клітин) відповідно до стандартних протоколів [5–7]. Клітини ізольовали з

органів і тканин лабораторних кролів (печінки, нирок, селезінки, кісткового мозку, серця, легень, сім'яників, м'язів задніх кінцівок).

Для оцінки генотоксичності вакцин методом ДНК комет в лужних умовах отримували мікропрепарати. Останні формували на предметному склі з агарозною пластинкою (1,0%-ий агарозний гель з універсальної агарози  $T_{пл} < 65^\circ\text{C}$ , на яку наносили суміш з 60 мкл обробленої клітинної суспензії та 60 мкл 0,5%-ого агарозного гелю. Далі іммобілізовані в агарозі препарати піддавали лізису розчином 10 mM Tris-HCl (pH = 10), 2,5 M NaCl, 100 mM EDTA-Na<sub>2</sub>, 1,0% Triton X-100 і 10,0% ДМСО упродовж 3 годин за температури 4°C. Після закінчення лізису предметне скло з мікропрепаратом клали в електрофоретичну камеру для лужної денатурації ДНК у розчині для електрофорезу (300 mM NaOH; 1 mM EDTA-Na<sub>2</sub>; pH > 13; 4°C) на 20 хв у вимкненому апараті. Розподіл денатурованої ДНК проводили гель-електрофорезом протягом 20–30 хв за напруженості поля 1 V/cm, силі струму не більше 250 mA. Після закінчення електрофорезу проводили фіксацію препарату 70%-им розчином етилового спирту упродовж 15 хвилин. Мікропрепарати фарбували флуоресцентним барвником – акридиновим помаранчевим упродовж 30 хвилин та візуалізували ДНК комети з допомогою флуоресцентного мікроскопа «ЛЮМАМ Р8» (збуджуючий фільтр 490 нм, дихроїчні дзеркала 510, відтинаючий фільтр 530 нм, збільшення ×200–400). Аналіз ДНК комет проводили візуально. На кожен мікропрепарат аналізували 200 ДНК комет без накладень «хвостів». При цьому ДНК комети розподіляли на п'ять умовних типів з відповідним для кожного числом від 0 до 4. Ступінь пошкодження ДНК у цьому разі виражали як індекс ДНК комет ( $I_{ДНК}$ ), обчислений за формулою:

$$I_{ДНК} = (0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4) / \Sigma, \text{ де}$$

$n_0 - n_4$  – число ДНК комет кожного типу,

$\Sigma$  – сума ДНК комет.

Експерименти виконували у двох паралелях. Статистичну оцінку результатів проводили, порівнюючи показники пошкодження ДНК в усіх групах. Дані двох повторностей поєднували і визначали середній показник групи. Критеріями позитивного результату були статистично достовірні високі показники пошкодження ДНК.

Тестування *in vivo* мутагенних властивостей вакцин «Мультибовісан », «Мультибовісан + AuNP (1,0%)» та «Мультибовісан + AuNP (0,5%)» мікроядерним тестом здійснювали за відомими протоколами дослідження [2, 8, 9]. Поліхроматофільні еритроцити кісткового мозку кролів ізолювали із стегових кісток шляхом їхнього вимивання фосфатно-сольовим буфером. Далі такі клітини відмивали та наносили тонким шаром на предметне скло, висушували на повітрі і фіксували 50,0 %-ним етиловим спиртом упродовж 30 хвилин. Зафіксовані препарати фарбували 5,0 %-ним розчином Гімза протягом 7 хвилин, промивали водою та висушували. Мікроскопію поліхроматофільних еритроцитів кісткового мозку лабораторних кролів здійснювали з допомогою

світлового мікроскопа («ЛЮМАМ Р8», Росія) за збільшення 40×100. Фіксували клітини з мікроядрами, аналізу підлягали не менше 1000 клітин. Критерієм позитивного результату в разі тестування мутагенності різних речовин з використанням мікроядерного тесту в поліхроматофільних еритроцитах кісткового мозку лабораторних тварин є збільшення частоти виникнення мікроядер у таких клітинах кісткового мозку лабораторних тварин понад 0,2%.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Методом ДНК комет в лужних умовах *in vivo* показано, що вакцини «Мультибовісан + AuNP (0,5%)», «Мультибовісан + AuNP (1,0%)» не проявляли генотоксичної дії на клітини печінки, нирок, серця, легень, селезінки, сім'яників, кісткового мозку та м'язів задніх кінцівок. Так, показники ДНК-руйнуючої активності – «I<sub>ДНК</sub>» знаходилися на рівні аналогічного показника базового препарату вакцини «Мультибовісан» (табл. 1). У цьому разі електрофоретичні зображення типу «ДНК-комет» були відсутніми.

Таблиця 1

**Генотоксичність вакцин «Мультибовісан», «Мультибовісан + AuNP (0,5 %)», «Мультибовісан + AuNP (1,0 %)» *in vivo***

Орган-мішень для генотоксичної дії вакцин	Показники «I <sub>ДНК</sub> » вакцин		
	«Мультибовісан»	«Мультибовісан + AuNP (0,5 %)»	«Мультибовісан + AuNP (1,0 %)»
печінка	0,21±0,02	0,24±0,01	0,22±0,01
нирки	0,41 ±0,03	0,39±0,01	0,39±0,01
кістковий мозок	0,67±0,03	0,71±0,01	0,63±0,03
серце	0,33±0,03	0,31±0,03	0,33±0,01
селезінка	0,44±0,01	0,39±0,01	0,40±0,02
легені	0,39±0,03	0,37±0,02	0,37±0,03
сім'яники	0,43±0,04	0,45±0,04	0,45±0,03
м'язи задніх кінцівок	0,29±0,03	0,27±0,02	0,24±0,03

**Примітка:** p<0,05, порівняно з контролем.

Тестування мутагенності вакцин «Мультибовісан», «Мультибовісан + AuNP (0,5%)», «Мультибовісан + AuNP (1,0%)» було проведено на поліхроматофільних еритроцитах кісткового мозку лабораторних кролів (табл.2).

Результати досліджень показали, що частота появи клітин з мікроядрами, як у випадку тестування базового препарату, так і в модифікованих зразках, становила 0,17%, що відповідає спонтанній частоті утворення мікроядер, та засвідчує відсутність мутагенної дії у дослідних вакцин.

Таблиця 2

**Оцінка мутагенних властивостей вакцин «Мультибовісан»,  
«Мультибовісан + AuNP (0,5 %)», «Мультибовісан + AuNP (1,0 %)»  
мікроядерним тестом**

Зразок поліхроматофільних еритроцитів кісткового мозку кролів	* Частота виникнення мікроядер, %	Середня частота виникнення мікроядер у групі тварин, %
тварина № 1, введено «Мультибовісан»	0,171± 0,001	0,17
тварина № 2, введено «Мультибовісан»	0,172 ± 0,002	
тварина № 3, введено «Мультибовісан»	0,172 ± 0,001	
тварина № 4, введено «Мультибовісан + AuNP (0,5%)»	0,168 ± 0,002	0,17
тварина № 5, введено «Мультибовісан + AuNP (0,5%)»	0,168 ± 0,002	
тварина № 6, введено «Мультибовісан + AuNP (0,5%)»	0,169 ± 0,002	
тварина № 7, введено «Мультибовісан + AuNP (1,0%)»	0,174 ± 0,002	0,17
тварина № 8, введено «Мультибовісан + AuNP (1,0%)»	0,172 ± 0,002	
тварина № 9, введено «Мультибовісан + AuNP (1,0%)»	0,174 ± 0,001	

**Примітка:** \* – середнє значення з двох паралелей.

Отже, виконаний *in vivo* комплекс досліджень щодо оцінки біобезпечності модифікованої біобезпечними наночастинками ауруму вакцини «Мультибовісан» за показниками генотоксичності та мутагенності дозволяє зробити висновок про відсутність потенційного негативного впливу на генетичний апарат організму тварин як базової вакцини, так і модифікованої біобезпечними наночастинками ауруму «Мультибовісан + AuNP (0,5%)», «Мультибовісан + AuNP (1,0%)». Отримані дані щодо біобезпечності вакцини «Мультибовісан», модифікованої наночастинками ауруму дають змогу стверджувати про відсутність негативного впливу наночастинок цього металу на цілісний живий організм. Крім того, біотрансформація наночастинок ауруму *in vitro* не призводить до утворення про мутагенів у організмі тварин. Такі дослідження відкривають перспективи широкого впровадження нанобіотехнологій комплексних високоефективних імунобіологічних препаратів для специфічної профілактики особливо небезпечних аеробних та анаеробних інфекцій сільськогосподарських тварин.

**Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. Встановлено, що зразки вакцини «Мультибовісан», модифікованої наночастинками ауруму розміром 30 нм «Мультибовісан + AuNP (0,5%)» і «Мультибовісан + AuNP (1,0 %)» не проявляють генотоксичної дії на клітини

печінки, нирок, серця, легень, селезінки, сім'яників, кісткового мозку та м'язів задніх кінцівок у разі підшкірного введення в організм лабораторних кролів.

2. Тестування мутагенності вакцин «Мультибовісан», «Мультибовісан + AuNP (0,5%)» та «Мультибовісан + AuNP (1,0%)» на поліхроматофільних еритроцитах кісткового мозку лабораторних кролів у мікроядерному тесті показало відсутність у даних вакцин цитогенетичної активності *in vivo*.

3. Експерименти *in vivo* засвідчили, що вакцини «Мультибовісан», «Мультибовісан + AuNP (0,5%)», «Мультибовісан + AuNP (1,0%)» є біобезпечними за показниками генотоксичності та мутагенності.

4. Дані, отримані в результаті проведених досліджень, відкривають перспективи використання наночастинок металів для модифікування базових ветеринарних вакцин.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація. / І.С.Чекман, З.Р.Ульберг, В.О.Маланчук, Н.О. Горчакова та ін. – К.: Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
2. Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів: методичні рекомендації / І.М.Трахтенберг, З.Р. Ульберг, І.С.Чекман та ін. – Київ, 2013. – 108 с.
3. Перцов А. В. Методические разработки к практикуму по коллоидной химии / А.В. Перцов. М.: Изд-во МГУ, 1976. – 132 с.
4. Проблема оцінки потенційних ризиків наноматеріалів та шляхи її вирішення / Ю.І. Кундієв, З. Р. Ульберг, І. М. Трахтенберг та ін. // Доповіді НАНУ. – 2013. – № 1. – С.177–183.
5. Патент України на корисну модель МПК (2009.01) G01N33/00 G01N33/48. Спосіб оцінки генотоксичних властивостей наноматеріалів /С.М. Дибкова, О.В. Годовський, М.Є. Романько [та ін.] // Заявл.10.09.2009; Опубл. 25.03.2010; Бюл. № 6. – 10с.
6. Оцінка біобезпеки наноматеріалів органічної та неорганічної природи методом визначення генотоксичності лужним гель-електрофорезом ізольованих еукаріотичних клітин: методичні рекомендації / С.М.Дибкова, Г.Грузіна, З.Р.Ульберг та ін. – К., 2010. – 24 с.
7. Use of alkaline *in vivo* Comet assay for mechanistic genotoxicity investigations / A. Hartmann, M. Shumacher, U. Plappert-Helbig et all. // Mutagenesis. – 2004. – Vol. 19. – № 1. – P. 51–59.
8. Оцінка мутагенності наноматеріалів: методичні рекомендації. / С.М. Дибкова, Л.С. Резніченко, Г. Грузіна та ін. – Київ, 2011. – 23 с.
9. Sahu K. Micronucleus assay in pulmonary alveolar macrophages, a simple model to detect genotoxicity of environmental agents entering through the inhalation route / K. Sahu, R. K. Das // Mutat. Res. – 1995. – V. 347. – № 2. – P. 61–65.

#### ОЦЕНКА *IN VIVO* ГЕНОТОКСИЧНОСТИ И МУТАГЕННОСТИ МУЛЬТИКОМПОНЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ «МУЛЬТИБОВИСАН»,

МОДИФИЦИРОВАННОЙ БИОБЕЗОПАСНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ АУРУМА/  
Рыженко Г.Ф., Горбатюк О.И., Андрияшук В.А., Жовнир А.М., Рудой А.В., Тютюн С.Н., Дибкова С.Н., Резниченко Л.С., Грузина Т.Г.

*Интенсивное развитие индустрии иммунобиологических препаратов для нужд ветеринарной медицины предусматривает усовершенствование методологии тестирования их токсичности и включает методы оценки мутагенности и генотоксичности вакцин. Целью работы была оценка *in vivo* генотоксичности и мутагенности мультикомпонентной вакцины «Мультибовисан», модифицированной биобезопасными наночастицами золота. Эксперименты *in vivo* показали, что вакцины «Мультибовисан», «Мультибовисан + AuNP*

(0,5%)», «Мультибовисан + AuNP (1,0%)» біобезопасны за критеріями генотоксичності і мутагенності.

**Ключевые слова:** «Мультибовисан», наночастиці аурума, генотоксичність, мутагенність, метод ДНК комет, мікроядерний тест, біобезопасність.

**IN VIVO EVALUATION OF GENOTOXICITY AND MUTAGENICITY OF MULTICOMPONENT VACCINE “MULTIBOVISAN” MODIFIED BIOSAFETY GOLD NANOPARTICLES** / Ryzhenko G.F., Gorbatyuk O.I., Andriyashuk V.A., Zhovnir O.M., Rudoy A.V., Tiutium S.M., Dybkova S.M., Rieznichenko L.S., Gruzina T.G.

**Introduction.** Vaccine genotoxicity and mutagenicity estimation in vivo is highly prognostic because of the possibility to predict the malignant degeneration of the eukaryotic cells as well as the level of risk for the posterity health in the case of essential changes in the DNA of animal cells.

**The goal of the work** was in vivo estimation of genotoxicity and mutagenicity parameters for multicomponent vaccine “Multibovisan” modified biosafety gold nanoparticles.

**Materials and methods.** For the in vivo estimation of genotoxicity and mutagenicity of “Multibovisan”, “Multibovisan+ AuNP (0,5%) ” and “Multibovisan+ AuNP (1%) ” vaccines, rabbit males have been used.

All experiments with laboratory animals have been carried out in compliance with “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”. Rabbits were injected subcutaneously with 2 ml of vaccine. Vaccination was performed twice, according to the specification of the vaccine. Experimental group consisted of 3 animals. The animals were kept in the vivarium in accordance with the appropriate sanitary regulations on a standard diet with 12-hour light regime and free access to food and water.

The level of DNA damage has been estimated by the Comet assay (alkaline gel-electrophoresis of isolated eukaryotic cells).

Cell isolation from liver, kidneys, spleen, bone marrow, heart, lungs, testicles and muscles of the hind limbs has been performed according to standard protocols.

Micronucleus test in vivo has been performed according to standard protocols.

The experiments have been done in two parallels. Statistical analysis of obtained results has been performed comparing the indexes of DNA damage in experimental and control groups. The data of two replications have been combined and average parameter for each group has been calculated. Statistically significant high indexes of DNA damage (data close to positive control) serve as criteria of positive result. The differences  $p < 0.05$  were considered as significant.

**Results of research and discussion.** When using the Comet assay method in alkaline conditions for testing “Multibovisan”, “Multibovisan + AuNP (0.5 %)” and “Multibovisan + AuNP (1.0 %)” vaccines genotoxicity, electrophoretic tracks of the DNA comet typical of the genotoxic influence on the eukaryotic cell have not been observed.

The obtained genotoxicity indexes  $I_{DNA}$  are close to those of the “Multibovisan” control. Studied veterinary vaccines “Multibovisan”, “Multibovisan + AuNP (0.5%)” and “Multibovisan + AuNP (1.0%)” are not genotoxic in the in vivo experiments. Modification of the vaccine “Multybovisan” with gold nanoparticles does not decrease its genotoxic effect. Investigated veterinary vaccines are biosafe according to the genotoxicity parameter.

By the micronucleus test in vivo, absence of the mutagenic effect of “Multibovisan”, “Multibovisan + AuNP (0.5%)” and “Multibovisan + AuNP (1.0%)” vaccines, has been shown. In the micronucleus test vaccines “Multibovisan” and “Multibovisan+ AuNP (0.5 %)” “Multibovisan+ AuNP (1.0 %)” were characterized by similar values of mutagenicity.

**Conclusions and prospects for further research.** The full set of experimental investigations of veterinary vaccines “Multibovisan”, “Multibovisan + AuNP (0.5%)” and “Multibovisan+ AuNP (1.0%)” showed the absence of the genotoxic and mutagenic effects. Investigated veterinary vaccines are biosafe to the genotoxicity and mutagenicity parameters.

Fulfilled investigations open perspectives for using of gold nanoparicles for modification of veterinary vaccines.

**Keywords:** “Multibovisan”, gold nanoparicles, genotoxicity, mutagenicity, Comet assay method, micronucleus test, biosafety.

REFERENCES

1. Chekman, I.S., Ulberg, Z.R., Malanchuk, V.O., Gorchakova, N.O. & Zupanec, I.A. (2012). *Nanonauka, nanobiologiya, nanopharmacologia* [Nanoscience, nanobiology, nanopharmacology]. Kyi'v. Poligraph plus [in Ukrainian].
2. Trachtenberg, I.M., Ulberg, Z.R., Chekman, I.S. et al. (2013). *Ocinka bezpeki likarskikh nanopreparativ: Metodychni rekomendacii'* [Safety assessment of drugs nanopreparation: Methodological guidelines]. Kyi'v, 108 [in Ukrainian].
3. Percov, A.V. (1976). *Metodycheskye razrabotki k praktikumu po kolloidnoy khimii* [Methodical developmeny to the training in colloidal chemistry]. M:Izd-vo MGU [in Russian].
4. Kundiev, U.I., Trachtenberg, I.M., Ulberg, Z.R. et al. (2013). Problema ocinki potentsiynich ryzukiv nanomaterialiv ta shlaxy virishenna [Nanomaterials risk assessment' problem and methods of its solution]. *Dopovydy NANU – Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 1, 177-183 [in Ukrainian].
5. Dybkova, S.M., Hodovskyi, O.V., Romanko, M.Y et al. Sposib ocinki genotoxychnykh vlastyvostey nanomaterialiv. [Method for evaluation of genotoxic properties of nanomaterials]. Patene UA on useful model MPK (2009.01) G01N33/00 G01N33/48 2010.
6. Dybkova, S.M., Gruzina, T.G., Ulberg, Z.R. et al. (2010). *Ocinka bezpeki nanomaterialiv organichnoi ta neorganichnoi prirody metodom vyznachenna genotoksychnosti lujnim gel-electroforezom izoluovanich eukariotychnykh clityn: Metodychni rekomendacii'*. [Biosafety assessment of nanomaterials of organic and inorganic nature by definition of genotoxicity by alkaline gel electrophoresis of isolated eukaryotic cells: Methodological guidelines]. Kyi'v, 24 [in Ukrainian].
7. Hartmann, A., Shumacher, M., Plappert-Helbig, U. et al (2004). Use of alkaline *in vivo* Comet aasay for mechanistic genotoxicity investigations. *Mutagenesis*, 19 (1), 51-59.
8. Dybkov, S.M., Rieznichenko, L.S., Gruzina, T.G. et al. (2011). *Ocinka mutagennosti nanomaterialiv: Metodychni rekomendacii'* [Assessment of nanomaterials' mutagenicity: Methodological guidelines]. Kyi'v, 23 [in Ukrainian].
9. Sahu, K. & Das, R.K. (1995). Micronucleus assay in pulmonary alveolar macrophages, a simple model to detect genotoxicity of environmental agents entering through the inhalation route *Mutat. Res.*, 347 (2), 61-65.

УДК: 639:615.9:636.085

РУДА М.С., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: myco-ivm@rambler.ru

ВАСЯНОВИЧ О.М., канд. с.-г. наук, ст. наук. сп., e-mail: myco-ivm@rambler.ru

Інститут ветеринарної медицини НААН

БОРИСЕВИЧ Б.В., д-р вет. наук, проф., e-mail: dekanat\_vetmed@nubip.edu.ua

Національний університет біоресурсів і природокристування України

КАРПИНЧИК В.А., д-р хім. наук, e-mail: vakarpinchik@yandex.ru

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ Т-2 ТОКСИКОЗІ МИШЕЙ ТА  
ЗАСТОСУВАННІ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ «ВІТАКОРМ»**

У статті висвітлені патоморфологічні зміни в органах та тканинах мишей при експериментальному Т-2 токсикозі та застосуванні кормової добавки «Вітакорм». При поїданні ураженого Т-2 токсином корму, у лабораторних тварин були виявлені морфологічні зміни в серці, шлунку, кишечнику, печінці, нирках та головному мозку, а у тварин, які