

20. USDA SAM 605 Supplemental Assay Method for Potency Testing of Erysipelothrix Rhusiopathiae Bacterins in Swine.
21. USDA SAM 606 Supplemental Assay Method for Potency Testing of Erysipelothrix Rhusiopathiae Vaccines in Swine.
22. USDA SAM 611 Supplemental Assay Method for Potency Testing of Erysipelothrix Rhusiopathiae Bacterins in Mice.
23. USDA SAM 612 Supplemental Assay Method for Bacterial Plate Count of Erysipelothrix Rhusiopathiae Vaccines.
24. USDA SAM 613 Supplemental Assay Method for In vitro Potency Testing of Erysipelothrix Rhusiopathiae Bacterins.
25. DSTU 6079:2009 Vakcina zhiva suha proti beshihi svinej. Tehnichni umovi. [Live vaccine against swine erysipelas dry. Specifications] [in Ukrainian].
26. Pinchuk, N.G., Golovko, A.M., Kolesnikova, K.Ju., & Chumachenko, V.V.(2015). Metodi kontroljuvannja jakosti vakcin proti beshihi svinej [Methods for quality control of vaccines against swine erysipelas]. *Guidelines*. K.: DNKIBShM – SSCIBSM [in Ukrainian].

УДК. 577.151:579.864.1

РИЖЕНКО Г.Ф., канд. біол. наук, доц., email: anaerob12@ukr.net,
ДИБКОВА С.М., канд. біол. наук, sdybkova@gmail.com,
ГОРБАТЮК О.І., email: anaerob12@ukr.net,
АНДРІЯЩУК В.О., email: anaerob12@ukr.net,
ЖОВНІР О.М., email: anaerob12@ukr.net,
УХОВСЬКА Т. М. канд. вет. наук,
ТЮТЮН С.М., email: anaerob12@ukr.net
Інститут ветеринарної медицини НААН
РЕЗНИЧЕНКО Л.С., канд. біол. наук, e-mail: Reznichenko_LS@mail.ru
ГРУЗИНА Т.Г., канд. біол. наук, e-mail: tgruzina@mail.ru
Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д.Овчаренка НАН України

СКРИНІНГ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ДЛЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВЕТЕРИНАРНИХ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ

У статті висвітлені результати вивчення препаратів сферичних наночастинок: Си середній розмір – 20 нм, (64,0 мг/мл); Ag середній розмір – 30 нм, (80 мкг/мл); Au середній розмір – 30 нм, (38,6 мкг/мл); Zn середній розмір – 20 нм, (24 мг/мл); Fe середній розмір – 40 нм, (10 мг/мл). Усі вони виявилися біобезпечними за показниками цитотоксичності, генотоксичності та мутагенності, за виключенням Zn – який є потенційно небезпечним за вище вказаними показниками.

Ключові слова: наночастинки металів, біобезпека, цитотоксичність, генотоксичність, мутагенність, ветеринарні імунобіологічні засоби.

Вступ. Проблеми специфічної профілактики анаеробних інфекцій тварин – клостридіозів, фузобактеріозів, актинобацильозу, злякисного набряку, анаеробної ентеротоксемії та ін., останнім часом, набувають особливого значення, оскільки ці хвороби стали розповсюдженими, перебігають як змішана інфекція, та спричиняють значні економічні збитки. Зустрічаються вони на усіх континентах, і

реєструються в країнах з розвинутим тваринництвом: США, Німеччина, Великобританія, Росія та ін., у тому числі й в Україні [1].

Для боротьби та ліквідації анаеробних інфекцій тварин в Україні є вакцини, діагностичні та лікувальні препарати. Але враховуючи те, що для усіх таких захворювань характерним є асоціації патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, ці препарати необхідно удосконалювати за допомогою новітніх перспективних технологій, до яких належать і нанотехнології [2].

Останнім часом у літературних джерелах з'явилися окремі повідомлення про створення та застосування нановакцин, в більшості для людей. Деякі з них повністю синтетичні вакцини, що не мають у складі природних вірусів, але імітують їхню будову та функції: наночастинки роблять синтетичну вакцину «схожою» на вірус, а також забезпечують її селективну доставку у лімфатичну систему. Наночастинка має той же розмір, що й вірус, а лімфатична система розпізнає її як вірус. Далі усе працює як і у разі введення звичайної вакцини: виникає імунна відповідь, виробляються антитіла. Перша вакцина такого типу «Selecta» – «щеплення» від куріння SEL-068. На черзі вакцини проти вірусів папіломи людини, малярії, діабету I типу, універсальна вакцина проти грипу [3].

У Росії проведені клінічні дослідження наступних вакцин:

- «Церварикс» – вакцина проти вірусу папіломи шийки матки (2007 р);
- вакцина «Гардасил» – рекомбінантна квадривалентна проти вірусу папіломи людини (2006 р);
- вакцина «Гриппол плюс», що використовувалася на території РФ у рамках національного проекту «Здоров'я» (2009 р).

Алерготропіни «Тимпол» і «Берпол» для запобігання алергії до пилку тимофіївки та берези – найбільш поширеної сезонної алергії у середній смузі Росії.

На стадії доклінічних досліджень знаходяться нановакцини проти туберкульозу, ВІЛ-інфекції, декількох видів раку (2010) [4].

Позитивні результати очікуються від застосування нанотехнологічних препаратів у сучасному сільському господарстві та ветеринарії. Вони можуть бути використані як: антимікробні препарати у ветеринарії; компоненти імунобіологічних препаратів (пробіотиків і вакцин); стимулятори біологічних властивостей виробничих штамів; вектори для цільової терапії, у складі кормових добавок до раціону тварин – нанонутрицевтиків [5].

Вчені вважають, що нановакцини кардинально змінять діючу наразі систему імунопрофілактики. У той же час, у доступній літературі відсутня інформація щодо ветеринарних імунобіологічних засобів, які містять у своєму складі наноматеріали.

Мета роботи. Визначити біобезпечність перспективних наночастинок металів для використання у біотехнології виготовлення ветеринарних імунобіологічних засобів.

Матеріали і методи досліджень. Наночастинки металів, перспективні для застосування у біотехнології виготовлення профілактичних засобів для

потреб ветеринарії, надані Інститутом біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України з відповідними паспортами:

Препарат сферичних наночастинок міді (CuNP), середній розмір – 20 нм; концентрація препарату – 64,0 мг/мл за металом;

Препарат сферичних наночастинок срібла (AgNP), середній розмір – 30 нм; концентрація препарату – 80 мкг/мл за металом;

Препарат сферичних наночастинок золота (AuNP), середній розмір – 30 нм; концентрація препарату – 38,6 мкг/мл за металом;

Препарат сферичних наночастинок цинку (ZnNP), середній розмір – 20 нм; концентрація препарату – 24 мг/мл за металом;

Препарат сферичних наночастинок заліза (FeNP), середній розмір – 40 нм; концентрація препарату 10 мг/мл за металом.

Оцінку безпечності наночастинок металів здійснювали шляхом дослідження генотоксичності – методом ДНК-комет у лужних умовах [6, 7], цитотоксичності – методом оцінки життєздатності клітин у тесті з кристалічним фіолетовим та в МТТ-тесті [8], мутагенності – анафазним методом підрахунку хромосомних аберацій у клітинах апікальної меристеми цибулі *Allium cepa* («*Allium test*») [9, 10].

Для оцінки цитотоксичності та генотоксичності наночастинок металів *in vitro* використовували клітин лінії ST (перещеплювані культури клітин тестикул поросят).. Як позитивний контроль використовували клітини культури ST, оброблені відомими мутагенами позитивного контролю – N-нітрозометилсечовиною (1 мМ) протягом 18 годин. Зразками негативного контролю виступали клітини ST, ресуспендовані у поживному середовищі та проінкубовані при 37°C протягом 18 годин.

Для визначення параметрів цитотоксичної дії досліджуваних наночастинок металів визначали ті концентрації досліджуваного нанопрепарату, які викликали загибель 50 відсотків клітин – IC₅₀ та які не викликають загибелі клітин, тобто клітини залишаються 100% життєздатними в дослідних зразках.

Результати досліджень та їх обговорення. Цитотоксичність наночастинок металів визначали у тесті на цілісність мембран клітин з кристалічним фіолетовим та в МТТ-тесті з використанням у якості тестової культури перещеплювальної культури клітин тестикул поросят (ST) (табл. 1).

В експерименті встановлено, що:

– препарат сферичних наночастинок міді середнього розміру 20 нм не цитотоксичний у концентрації 50 мкг/мл за металом;

– препарат сферичних наночастинок золота середнього розміру 30 нм не цитотоксичний у концентрації 3,5 мкг/мл за металом;

– препарат сферичних наночастинок срібла середнього розміру 30 нм не цитотоксичний у концентрації 1,3 мкг/мл за металом;

– препарат сферичних наночастинок заліза середнього розміру 40 нм не цитотоксичний у концентрації 50 мкг/мл за металом;

– препарат сферичних наночастинок цинку середнього розміру 20 нм

цитотоксичний в дослідженому концентраційному діапазоні.

Таблиця 1

Результати досліджень цитотоксичності тестованих наночастинок металів

Зразок	Тест на цілісність мембран клітин (з кристалічним фіолетовим), концентрація за металом		Тест на інтенсивність мітохондріального дихання (МТТ-тест), концентрація за металом	
	IC ₅₀	100 % виживаність	IC ₅₀	100 % виживаність
Ag	4,38 мкг/мл	1,3 мкг/мл	2,95 мкг/мл	1,3 мкг/мл
Au	7,87 мкг/мл	3,5 мкг/мл	7,87 мкг/мл	3,5 мкг/мл
Fe	75,0 мкг/мл	50,0 мкг/мл	50,0 мкг/мл	50,0 мкг/мл
Zn	1,0 мкг/мл	–	1,0 мкг/мл	–
Cu	57,0 мкг/мл	50,0 мкг/мл	55,0 мкг/мл	50,0 мкг/мл

Примітка: – відмічали загибель клітин.

На наступному етапі, оцінювали безпечність наночастинок металів, перспективних для виробництва ветеринарних імунобіологічних засобів. Генотоксичність тестованих наночастинок металів досліджували методом ДНК комет у лужному середовищі на тестовій культурі ST (табл. 2).

Таблиця 2

Результати досліджень генотоксичності тестованих наночастинок металів

Зразок	Показник генотоксичності «I _{днк} »	Показник генотоксичності «I _{днк} » за використання системи метаболічної активації S9	Висновок про генотоксичність
Негативний контроль	0,12±0,01	0,15±0,01	Не генотоксичний
Позитивний контроль	2,21±0,14*	3,11±0,11	Генотоксичний
Ag, 4,4 мкг/мл	0,12±0,01***	0,13±0,01***	Не генотоксичний
Ag, 1,3 мкг/мл	0,12±0,01***	0,12±0,01***	Не генотоксичний
Au, 7,9 мкг/мл	0,13±0,01***	0,13±0,02***	Не генотоксичний
Au, 3,5 мкг/мл	0,12±0,01***	0,13±0,02***	Не генотоксичний
Fe, 75 мкг/мл	0,13±0,02***	0,14±0,01***	Не генотоксичний
Fe, 50 мкг/мл	0,13±0,01***	0,14±0,01***	Не генотоксичний
Zn, 1,0 мкг/мл	1,77±0,02**	2,12±0,04**	Генотоксичний
Zn, 0,5 мкг/мл	1,75±0,02**	2,15±0,01**	Генотоксичний
Cu, 55,0 мкг/мл	0,15±0,02***	0,16±0,02***	Не генотоксичний
Cu, 55,0 мкг/мл	0,14±0,02***	0,16±0,02***	Не генотоксичний

Примітки: ** – $p < 0,01$, порівняно з негативним контролем; *** – $p < 0,001$, порівняно з позитивним контролем.

З наведених результатів тестувань *in vitro* не генотоксичними виявилися досліджувані наночастинок золота, срібла, заліза та міді. Наночастинок цинку володіли генотоксичними властивостями. Такі наночастинок є потенційно небезпечними для генетичного апарату еукаріотичної клітини, а тому, не можуть

бути рекомендованими до застосування в біотехнології та ветеринарії. Отримані результати щодо генотоксичності наночастинок металів співпадають з даними літератури [11, 12].

Дослідження мутагенності тестованих наночастинок металів проводили анафазним методом підрахунку хромосомних аберацій у клітинах апікальної меристеми цибулі *Allium cepa* (табл. 3).

Таблиця 3

Рівень аберантних клітин за дії наночастинок металів на клітини апікальної меристеми *Allium cepa*

Зразок	% аберантних клітин	Мітотичний індекс, %	Висновок про мутагенність наночастинок
Контроль (насінини без обробки наночастинками заліза)	0,2±0,08%	64±2 %	
Насінини + AgNP, 1,3 мкг/мл	0,3±0,04%	95±1 %	Не мутагенні
Насінини + AuNP, 3,5 мг/мл	0,1±0,01%	75±3 %	Не мутагенні
Насінини + FeNP, 10,0 мг/мл	0,2±0,09%	85±3 %	Не мутагенні
Насінини + ZnNP, 1,0 мкг/мл	24,2±2,5%	81±2 %	Мутагенні
Насінини + CuNP, 55,0 мкг/мл	0,2±0,01%	83±1 %	Не мутагенні

Як видно з таблиці 3, рівень хромосомних аберацій у клітинах апікальної меристеми *Allium cepa* за дії досліджуваних наночастинок золота розміром 30 нм, заліза 40 нм та міді 20 нм не відрізнявся від рівня у контрольних зразках. Збільшення відсотку аберантних клітин (до 0,3%) під дією наночастинок срібла розміром 30 нм може бути обумовлене інтенсифікацією мітотичного процесу (95%) у оброблених клітинах цими наночастинками і не свідчить про їх мутагенну активність. Результати щодо відсутності мутагенного впливу наночастинок золота і срібла на тестові рослини меристеми співпадають з показниками, отриманими нами раніше [13].

Досліджувані наночастинок цинку чинили мутагенну дію на апікальні меристеми *Allium cepa*, що свідчить про їх на потенційно небезпечну дію для живих об'єктів.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Оцінка безпечності досліджуваних наночастинок металів шляхом дослідження **цитотоксичності** методом аналізу життєздатності клітин у тесті з кристалічним фіолетовим та в МТТ-тесті, **генотоксичності** методом ДНК-комет у лужних умовах та **мутагенності** анафазним методом підрахунку хромосомних аберацій у клітинах апікальної меристеми цибулі *Allium cepa* («*Allium test*») виявилася високопрогностичною й адекватною для обґрунтування використання наночастинок золота, срібла, міді та заліза, як компонентів ветеринарних імунобіологічних засобів.

2. Препарат сферичних наночастинок цинку (ZnNP) середнього розміру 20 нм виявився потенційно небезпечним за показниками цитотоксичності, генотоксичності та мутагенності. Використання цих наночастинок є небезпечним у складі ветеринарних імунобіологічних засобів.

3. Препарати сферичних наночастинок міді (CuNP) середнього розміру 20 нм, срібла (AgNP) середнього розміру 30 нм; золота (AuNP) середнього розміру 30 нм; заліза (FeNP) середнього розміру 40 нм є безпечними за показниками цитотоксичності, генотоксичності та мутагенності й перспективними для подальших наукових досліджень у виробництві експериментальних зразків ветеринарних імунобіологічних засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Інфекційні хвороби тварин /Апатенко В., Мороз Д.// Агробізнес сьогодні. – 2010. – №13 (188) – <http://www.agro-business.com.ua/suchasne-tvarynyystvo/37-infektsiini-khvoroby-tvaryn.html>.
2. Теоретичне та експериментальне обґрунтування використання нанотехнологій для створення імунобіологічних препаратів / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк [та ін] // Ветеринарна біотехнологія. – 2013. – № 23. – С. 438–446.
3. Сучасні технології виготовлення вакцин / Чернишова Л.І., Лапій Ф.І // Здоров'я дитини. – 2014. – №4 (55). – С.167–171.
4. Чекман І.С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування / І.С. Чекман // Укр.біохімічний журнал. – 2009. – Т. 81, № 1. –С. 122–129.
5. Нанотехнології в сучасному сільському господарстві / О.В. Ситар, Н.В. Новицька, Н.Ю. Таран [та ін.] // Фізика живого. – 2010. Т.18. – С. 113–116.
6. Оцінка біобезпеки наноматеріалів органічної та неорганічної природи методом визначення генотоксичності лужним гель-електрофорезом ізольованих еукаріотичних клітин: методичні рекомендації / С.М. Дибкова, Т.Г. Грузина, З.Р. Ульберг, та ін. – К., 2010. – 24 с.
7. 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. – 10 с.
8. Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів: методичні рекомендації / І.М. Трахтенберг, З.Р. Ульберг, І.С. Чекман, та ін. – Київ, 2013. – 108 с.
9. Оцінка мутагенності наноматеріалів: методичні рекомендації / С.М. Дибкова, Л.С.Резніченко, Т.Г. Грузина та ін. – Київ, 2011. – 23 с.
10. Abu, Ngozi E., Mba, K. C. Mutagenecity testing of pharmarceutical effluents on Allium sera root tip meristems/ Abu, E. Ngozi, K.C. Mba// Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences. Academic journals. – 2011. – Vol. 3. – No 2. – P. 44–51.
11. 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.
12. Метод ДНК-комет в оцінці безпечності наночастинок металів біотехнологічного та медичного призначення / С.М.Дибкова // Вісник проблем біології та медицини. – 2014. – Вип. 3., Т.3 (112). С. 279–283.
13. Оцінка мутагенної дії наночастинок золота і срібла, перспективних у біотехнології та медицині / С.М. Дибкова // Вісник проблем біології та медицини. – 2011. – Вип. 3, Т. 1 (87). – С. 32–34.

СКРИНІНГ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ, ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ ВЕТЕРИНАРНЫХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ / Рыженко Г.Ф., Дыбкова С.Н., Горбатюк О.И., Андрияшук В.А., Жовнир А.М., Тютюн С.Н, Резниченко Л.С., Грузина Т.Г.

В статтє освещены результаты изучения препаратов сферических наночастиц – CuNP – средний размер – 20 нм, концентрация препарата – 64,0 мг/мл по металлу; AgNP – средний размер – 30 нм, концентрация препарата – 80 мкг/мл по металлу, AuNP – средний

размер – 30 нм, концентрація препарату – 38,6 мкг/мл по металу, ZnNP – середній розмір – 20 нм, концентрація препарату – 24 мг/мл по металу, FeNP – середній розмір – 40 нм, концентрація препарату 10 мг/мл по металу.

Все вони оказались біобезпечними по показателям цитотоксичності, генотоксичності і мутагенності за виключенням препарату ZnNP, який потенційно небезпечний і його використання в складі ветеринарних імунобіологічних препаратів не планується.

Ключевые слова: наночастиці металів, біобезпечність, цитотоксичність, генотоксичність, мутагенність, ветеринарні імунобіологічні засоби.

SCREENING OF METAL NANOPARTICLES FOR APPLICATION IN BIOTECHNOLOGY OF VETERINARY IMMUNOBIOLOGICAL AGENTS /

Ryzhenko G.F., Dybkova S. M., Gorbatyuk O.I., Andriyashuk V.A., Zhovnir O.M., Tiutiun S.M., Rieznichenko L. S., Gruzina T. G.

Introduction. Issues specific prevention of animals infections in recent years are particularly important because these diseases are the most common, occurring as a mixed infection, and cause significant economic losses. But given the fact that almost all of these diseases associated with microorganisms, these drugs should be improved with the latest advanced technologies, which include nanotechnology.

The goal of the work was to determine biosafe of metal nanoparticles for their using they in the biotechnology of veterinary immunological means against infections of animals.

Materials and methods of researches. Metal nanoparticles were synthesized by the F.D.Ovcharenko Institute of Biocolloidal Chemistry, NAS of Ukraine: copper (CuNP) – 20 nm; silver (AgNP) – 30 nm; gold (AuNP) – 30 nm; zinc (ZnNP) – 20 nm; iron (FeNP) – 40 nm.

Evaluation of cytotoxicity of metal nanoparticles *in vitro* by the method for assessing cell's viability with crystal violet and MTT assay was performed using eukaryotic cells line ST (testicles of pigs.) Genotoxicity estimation *in vitro* for metal nanoparticles has been analyzed by the Comet assay method using eukaryotic cell culture ST. For the estimation of the mutagenicity of metal nanoparticles was performed using *Allium cepa* root tip meristems ("Allium test").

Results and discussions. The full set of experimental investigations of metal nanoparticles (CuNP, AgNP, AuNP, FeNP) showed low level of their cytotoxic effect.

Obtained results demonstrate the absence of genotoxic influence of CuNP, AgNP, AuNP, FeNP both under the conditions *in vitro* and in the experiments that includes with using of metabolic activation system.

CuNP, AgNP, AuNP and FeNP do not cause increased the frequencies of chromosomal aberrations in the apical meristem of *Allium cepa* compared with control samples, and therefore do not cause mutagenic' action.

ZnNP possess genotoxic, cytotoxic properties and were characterized by high values of the mutagenicity.

Conclusions and prospects for further research. Investigated CuNP, AgNP, AuNP and FeNP are biosafe according to the genotoxicity, cytotoxicity and mutagenicity parameters. Fulfilled investigations open perspectives for using of investigated metal nanoparicles for modification of veterinary immunological means.

Keywords: metal nanoparicles, biosafety, cytotoxicity, genotoxicity, mutagenicity, veterinary immunological means

REFERENCES

1. Apatenko, V., & Moroz, D. (2010). Infektsiyni khvoroby tvaryn [Infectious diseases of animals]. *Ahrobiznes s'ohodni. – Ahrobiznes today*, 13 (188). Retrieved from <http://www.agro-business.com.ua/suchasne-tvarynnytstvo/37-infektsiyni-khvoroby-tvaryn.html>.

2. Ryzhenko, V.P, Ryzhenko, G.F., Gorbatyuk, O.I. et al. (2013). Teoretychne ta eksperymental'ne obhruntuvannya vykorystannya nanotekhnolohiy dlya stvorennya imunobiolohichnykh preparativ. [Theoretical and experimental justification for the use of nanotechnology to create immunological drugs]. *Veterynarna biotekhnolohiya – Veterinary biotechnology*, 23. 438-446 [in Ukrainian].

3. Chernyshova L.I., Lapiy F.I. (2014). Suchasni tekhnolohiyi vyhotovlennya vaktsyn [Modern manufacturing of vaccines]. *Zdorov'ya dytyny – Child Health*, 4 (55), 167-171 [in Ukrainian].

4. Chekman, I.S. (2009). Nanochastynky: vlastyvosty ta perspektyvy zastosuvannya [Nanoparticles: properties and application prospects]. *Ukr.bioximichnyi journal – The Ukrainian Biochemical Journal*, 81, 1 [in Ukrainian].

5. Sytar, O.V., Novicka, N.V, Taran, N.U., Kalenska, S.M.& Ganchurin, V.V (2010). Nanotechnology v sychasnomu silskomu gospodarstvy [Nanotechnology in modern agriculture]. *Phyzyka gyvogo – Physics of the Alive*, 18, 3 [in Ukrainian].

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* [Biosafety assessment of nanomaterials of organic and inorganic nature by definition of genotoxicity by alkaline gel electrophoresis of isolated eukaryotic cells]. *Guidelines*. Kyi'v, 24 [in Ukrainian].

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

8. Trachtenberg, I.M., Ulberg, Z.R., Chekman, I.S. et al. (2013). *Ocinka bezpeki likarskich nanopreparativ* [Safety assessment of drugs nanopreparation]. *Guidelines*. Kyi'v, 108 [in Ukrainian].

9. Dybkova, S.M., Rieznichenko, L.S., Gruzina, T.G. et al. (2011). *Ocinka mutagennosti nanomaterialiv* [Assessment of nanomaterials' mutagenicity] *Guidelines*. Kyi'v, 23 [in Ukrainian].

10. Abu, Ngozi E., Mba, K.C. (2011). Mutagenecity testing of phamarceutical effluents on *Allium cepa* root tip meristems *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, V.3, 2, 44-51.

11. Kundiev, U.I., Trachtenberg, I.M., Ulberg, Z.R. et al. (2013). Problema ocinki potencyynich 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].

12. Dybkova, S.M. (2014). Method DNK-komet v ocincy bezpechnosty nanochastynok methaliv biothechnologichnogo ta medychnogo pryznachenna [Comet assay in assessing the safety of metal nanoparticles for biotechnology and medicine]. *Visnik problem biology ta medycyny – Journal problems of biology and medicine*, 3, 3(112), 279–283 [in Ukrainian].

13. Dybkova, S.M. (2011). Ocinka mutagennosti dla nanochastynok zolota i sribla, perspektyvnyx u biothechnolohiyi ta medycyni [Assessment mutagenic effect of gold and silver nanoparticles, perspective for biotechnology and medicine]. *Visnik problem biology ta medycyny – Journal problems of biology and medicine*, 3, 1(87), 32–34 [in Ukrainian].