

10. Cliquet, F, Gurbuxani, J.P., Pradhan, H.K., Pattnaik, B., Patil, S.S., Regnault, A. et al. (2007). The safety and efficacy of the oral rabies vaccine SAG2 in Indian stray dogs. *Vaccine*, 30, 25 (17), 3409-18.

**УДК: 639: 616.981.55**

**ГОРБАТЮК О.І.**, канд. вет. наук, доц., e-mail: goroliva@ukr.net,

**АНДРІЯЩУК В.О.**, канд. вет. наук, e-mail: and\_valentina@hotmail.com,

**РИЖЕНКО Г.Ф.**, канд. біол. наук, доц., e-mail: anaerob12@ukr.net,

**ЖОВНІР О.М.**, канд. вет. наук, e-mail: Zhovnir73@ukr.net,

*Інститут ветеринарної медицини НААН*

**РЕЗНИЧЕНКО Л.С.**, канд. біол. наук, ст. наук. сп., e-mail: reznichenko\_ls@mail.ru,

**ДИБКОВА С.М.**, канд. біол. наук, ст. наук. сп., e-mail: sdybkova@gmail.com

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

**УХОВСЬКА Т.М.**, канд. вет. наук, e-mail: tanyavet@ukr.net,

**ТЮТЮН С.М.**, e-mail: anaerob12@ukr.net

*Інститут ветеринарної медицини НААН*

## **ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ НА АКТИВІЗАЦІЮ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У КЛІТИНАХ *S. PERFRINGENS* ТИП А**

*У статті висвітлені матеріали експериментальних досліджень стосовно вивчення впливу наночастинок металів золота (AuNP), срібла (AgNP), міді (CuNP) і заліза (FeNP) у вигляді колоїдних розчинів на активізацію метаболічних процесів у клітинах збудника *S. perfringens* тип А. Представлений аналіз одержаних результатів досліджень та визначені індивідуальні стимулюючі концентрації AuNP, AgNP, CuNP, FeNP для отримання найбільших об'ємів бактеріальної маси клітин збудника з метою використання даних для розробки біотехнології виготовлення вакцинних препаратів, які містять наночастинки металів.*

**Ключові слова:** AuNP, AgNP, CuNP, FeNP; наночастинки, нанорозмірність, *S. perfringens*.

**Вступ.** Розвиток сучасних технологій синтезу наночастинок є одним із провідних напрямків світової науки і практики та значно розширює можливості їхнього застосування у різних галузях медицини, зокрема у біотехнології виготовлення ветеринарних імунологічних засобів [1–4].

Відомо, що наночастинок металів займають проміжне положення між окремими атомами й молекулами. Їм притаманні принципово інші фізичні та хімічні властивості, специфіка яких визначається відповідними законами квантової фізики – велика питома поверхня, малі розміри, різноманітність форм, збільшення хімічного потенціалу речовини, високі адсорбційна активність та здатність до акумуляції. Велика питома поверхня сприяє зростанню адсорбційної ємності і підвищує адсорбцію на поверхні самих наночастинок металів різних контамінатів, що сприяє полегшенню їхнього транспортування у клітини. Ультрамалі розміри наночастинок металів

сприяють підвищенню біодоступності, подоланню біологічних бар'єрів (гемато-енцефалічного, гісто-гематичного, плацентарного, інших), можливості кращого зв'язування з нуклеїновими кислотами та білками і вбудовуванню в мембрани клітин, проникненню в органели зі зміною їхніх функцій [5–9].

Застосування наночастинок металів у біотехнології виготовлення вакцин можливо здійснювати у двох напрямках – як окремого складового компонента вакцинного препарату або як каталізаторів метаболічних процесів у клітинах виробничих штамів збудників для одержання великих об'ємів бактеріальної маси за їхнього використання на певному етапі технологічного процесу [10, 11]. Тому, вивчення особливостей впливу наночастинок металів на модуляцію біохімічних процесів у клітинах патогенних культур є актуальним питанням, оскільки відкриває перспективи щодо контролювання і регулювання інтенсивності їхніх фізіолого-біохімічних реакцій та дає можливість удосконалювати біотехнологію виготовлення вакцинних препаратів.

**Метою** наших досліджень було визначити найменші концентрації наночастинок золота (AuNP), срібла (AgNP), міді (CuNP) і заліза (FeNP), які б стимулювали метаболічні процеси у клітинах *S. perfringens* тип А і сприяли накопиченню найбільших об'ємів його бактеріальної маси для застосування у біотехнології виготовлення вакцинних препаратів для тварин.

**Матеріал і методи досліджень.** Робота виконана в лабораторії анаеробних інфекцій ім. В Риженка. Наночастинки металів синтезовані в Інституті біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України у вигляді колоїдних розчинів за вихідних концентрацій за металом: AuNP – 38,6 мкг/мл, розмірністю 30,0 нм; AgNP – 80 мкг/мл, розмірністю 30,0 нм; CuNP – 32,0 мкг/мл, розмірністю 20 нм; FeNP – 5,0 мкг/мл, розмірністю 40,0 нм. Кожен із перелічених нанопрепаратів має паспорт безпеки з тестами на підтвердження відсутності цитотоксичного, генотоксичного і мутагенного впливу на живі об'єкти.

Визначали найменшу індивідуальну стимулюючу концентрацію дослідних нанопрепаратів за рівнем накопичення найбільших об'ємів бактеріальної маси збудника *S. perfringens* тип А, оскільки активність культурального росту патогенних бактерій є одним із надважливих завдань у біотехнології виробництва вакцин.

Для постановки досліду використовували наступну методику: із матричних колоїдних розчинів AuNP, AgNP, CuNP, FeNP виготовляли по три робочих розведення у флаконах № 1, № 2, № 3 з 40,0 см<sup>3</sup> МППБ з додаванням стерильного розчину глюкози – 10,0 % і стерильної сироватки крові великої рогатої худоби 5,0 % *ex tempore* в асептичних умовах. У флакони № 1 вносили по 10,0 см<sup>3</sup>; № 2 – по 5,0; № 3 – по 1,0 см<sup>3</sup> кожного із дослідних розчинів наночастинок металів вихідних концентрацій (табл. 1).

Дослідний штам *S. perfringens* тип А, культивували на середовищі Кітта-Тарроці упродовж 24 год. Суспензію бактеріальних клітин збудника відбирали у стерильні флакони в асептичних умовах, ретельно перемішували, маркували та використовували для посівів у флакони з різними наночастинками металів за

їх робочих концентрацій.

Таблиця 1

**Робочі розведення наночастинок металів, використаних для постановки експерименту**

№ п/п	Назва наночастинок металів, їх вихідна концентрація і розмірність	Одержані робочі розведення у флаконах:		
		№ 1	№ 2	№ 3
1.	AuNP (38,6 мкг/мл); 30,0 нм	9,650	4,830	0,965
2.	AgNP (80 мкг/мл); 30,0 нм	20,000	10,000	2,000
3.	CuNP (0,32 мг/мл); 20 нм	0,080*	0,040*	0,008*
4.	FeNP (2,5 мг/мл); 40,0 нм	0,625*	0,310*	0,060*

**Примітка:** Одиниці вимірювання робочих розведень у флаконах – мкг/мл; \* – мг/мл.

Кожну робочу концентрацію відповідних наночастинок металів розливали у 4 флакони по 10,0 см<sup>3</sup>. У якості контролю (флакон № 5) розливали по 10,0 см<sup>3</sup> МППБ з глюкозою і сироваткою крові без нанопрепаратів.

Далі в усі дослідні і контрольні флакони вносили суспензію добової культури *S. perfringens* тип А (концентрація 2 млрд м. кл./см<sup>3</sup>). На поверхню засіяного середовища наливали стерильну вазелінову олію для забезпечення умов культивування, максимально наближених до анаеробних.

Флакони № 5 із початковим контролем росту культури збудника відразу відбирали і проводили інактивацію культури розчином формальдегіду із розрахунку 0,3 % на 1,0 см<sup>3</sup> культуральної суспензії. Флакони № 5 з культурою *S. perfringens* тип А без нанопрепаратів (контрольні) і флакони від № 1 до № 4 з культурою в присутності різних робочих розведень нанопрепаратів (дослідні), культивували за t 37°C упродовж визначених термінів – 6, 12, 24, 36 год. За закінчення кожного із термінів вирощування, культуру збудника інактивували, як описано вище.

Облік кількісного вмісту бактеріальних клітин у 1,0 см<sup>3</sup> проводили за оптичним стандартом каламутності [12].

Дослідження з визначення оптимальної індивідуальної концентрації наночастинок металів золота, срібла, заліза і міді для максимальної стимуляції росту культури *S. perfringens* тип А були проведені дворазово у різні періоди і за підрахунків використані усі одержані результати.

Використані наступні методи досліджень: біохімічний, мікробіологічний, варіаційно-статистичний.

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами досліджень з визначення індивідуальних оптимальних концентрацій AuNP, AgNP, CuNP, FeNP, які активізували ростові властивості культури *S. perfringens* тип А, були визначені найменші стимулюючі концентрації наночастинок металів і оптимальні терміни культивування збудника у їхній присутності, які забезпечували найвищу концентрацію мікроорганізмів в 1,0 см<sup>3</sup> середовища (табл. 2).

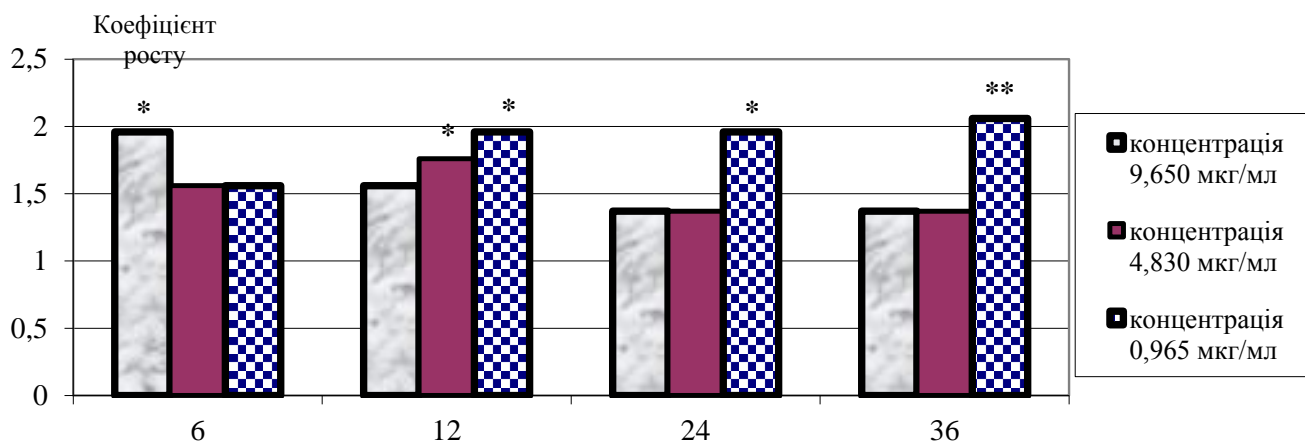
Таблиця 2

**Кількісні показники вмісту бактеріальних клітин *S. reffringens* тип А за культивування у присутності різних концентрацій наночастинок металів і режимів культивування**

№ п/п	Назва наночастинок металів та їхні концентрації	початкові дані	Показники кількісного вмісту бактеріальних клітин, (млрд. м. кл./см <sup>3</sup> ):							
			після культивування упродовж, год:			кофіцієнт росту (дослід/контроль),				
			6	12	24	36	6	12	24	36
AuNP (вихідна концентрація 38,6 мкг/мл)										
1.	робочі концентрації (мкг/мл): № 1 – 9,650	(5,1±0,6)	10,0±0,6*	8,0±0,6	7,0±0,3	7,0±0,1	1,96	1,56	1,37	1,37
	№ 2 – 4,830		8,0±0,1	9,0±0,6*	7,0±0,1	7,0±0,3	1,56	1,76	1,37	1,37
	№ 3 – 0,965		8,0±0,1	10,0±0,7*	10,0±0,1*	10,5±0,1**	1,56	1,936	1,96	2,06
AgNP (вихідна концентрація 80,0 мкг/мл)										
2.	робочі концентрації (мкг/мл): № 1 – 20,00	(5,1±0,6)	14,0±0,6**	19,0±0,6***	18,5±0,3***	23,0±0,1***	2,75	3,73	3,63	4,51
	№ 2 – 10,00		14,5±0,2**	17,0±0,1**	20,5±0,7***	19,5±0,6***	2,84	3,33	4,02	3,82
	№ 3 – 2,00		14,0±0,3**	16,0±0,6**	18,5±0,1***	14,0±0,3***	2,75	3,14	3,63	2,75
CuNP (вихідна концентрація 0,32 мг/мл)										
3.	робочі концентрації (мг/мл): № 1 – 0,080	(5,1±0,6)	8,5±0,1	13,0±0,3**	14,0±0,6**	16,0±0,6**	1,66	2,55	2,75	3,14
	№ 2 – 0,040		11,0±0,2*	13,0±0,7**	20,0±0,1***	18,0±0,6***	2,16	2,55	3,92	3,53
	№ 3 – 0,008		7,5±0,6	11,0±0,1*	13,0±0,6**	12,0±0,1*	1,47	2,16	2,55	2,35
FeNP (вихідна концентрація 2,5 мг/мл)										
4.	робочі концентрації (мг/мл): № 1 – 0,625	(5,1±0,6)	14,5±0,1**	107,0±0,7***	120,0±0,2***	120,0±0,17***	2,84	20,08	23,5	23,5
	№ 2 – 0,310		16,0±0,1**	99,0±0,33***	110,0±0,7***	109,0±1,20***	3,14	19,4	21,57	21,37
	№ 3 – 0,060		18,5±0,6***	25,0±0,1***	45,0±0,7***	46,0±0,1***	3,63	4,9	8,8	9,02

**Примітка:** \* – p>0,05; \*\* – p>0,01; \*\*\* – p>0,001, порівняно із початковими даними.

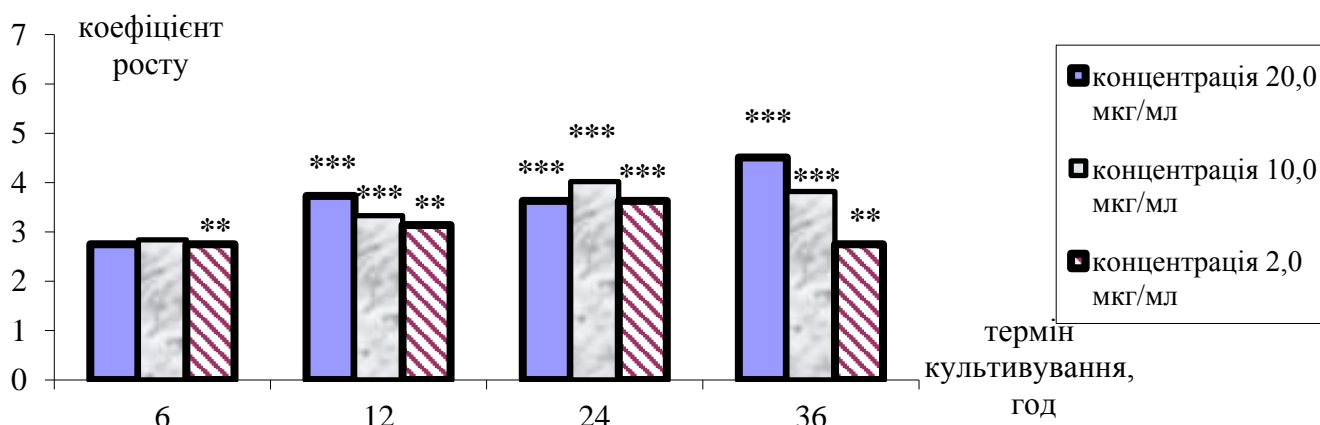
За результатами досліджень щодо впливу AuNP на метаболічні процеси бактеріальних клітин *Cl. perfringens* тип А встановлено, що культивування культури за присутності нанопрепарату за концентрації 0,965 мкг/мл упродовж 36 год забезпечувало динамічне вірогідне зростання бактеріальної маси за коефіцієнтом росту у 2,06 разів ( $p > 0,01$ ), порівняно з початковими даними. Вищі і нижчі концентрації AuNP впливали на метаболічні процеси клітин збудника менш ефективно (рис. 1).



**Рис. 1.** Вміст бактеріальних клітин *C. perfringens* тип А за різних термінів культивування у присутності різних концентрацій AuNP.

Примітка: \* –  $p > 0,05$ ; \*\* –  $p > 0,01$ ; \*\*\* –  $p > 0,001$ , порівняно із початковими даними.

Аналіз результатів досліджень щодо впливу наночастинок срібла на стимуляцію метаболічних процесів *C. perfringens* тип А показав, що ріст бактерій у присутності 20,0 мкг/мл AgNP упродовж 24 год сприяв збільшенню об'ємів бактеріальної маси за коефіцієнтом росту у 4,02 рази ( $p > 0,001$ ), порівняно з початковими даними (рис. 2).



**Рис. 2.** Показники об'ємів бактеріальної маси *Cl. perfringens* тип А за культивування у присутності різних концентрацій наночастинок AgNP.

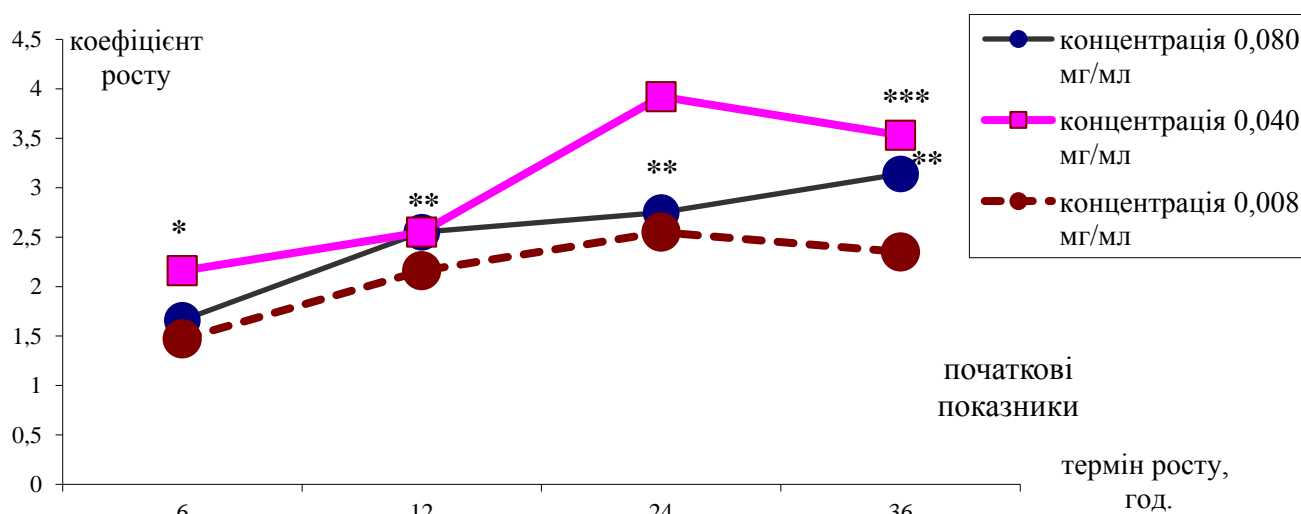
Примітка: \* –  $p > 0,05$ ; \*\* –  $p > 0,01$ ; \*\*\* –  $p > 0,001$ , порівняно із початковими даними.

Експериментальні дослідження з вивчення впливу наночастинок міді на стимуляцію росту *C. perfringens* тип А показали, що за культивування культури у присутності 0,040 мг/мл наночастинок міді упродовж 24 год спостерігалось

зростання об'єму бактеріальної маси за коефіцієнтом росту у 3,92 разів ( $p > 0,001$ ), порівняно із даними на початку експерименту (рис. 3, 4).

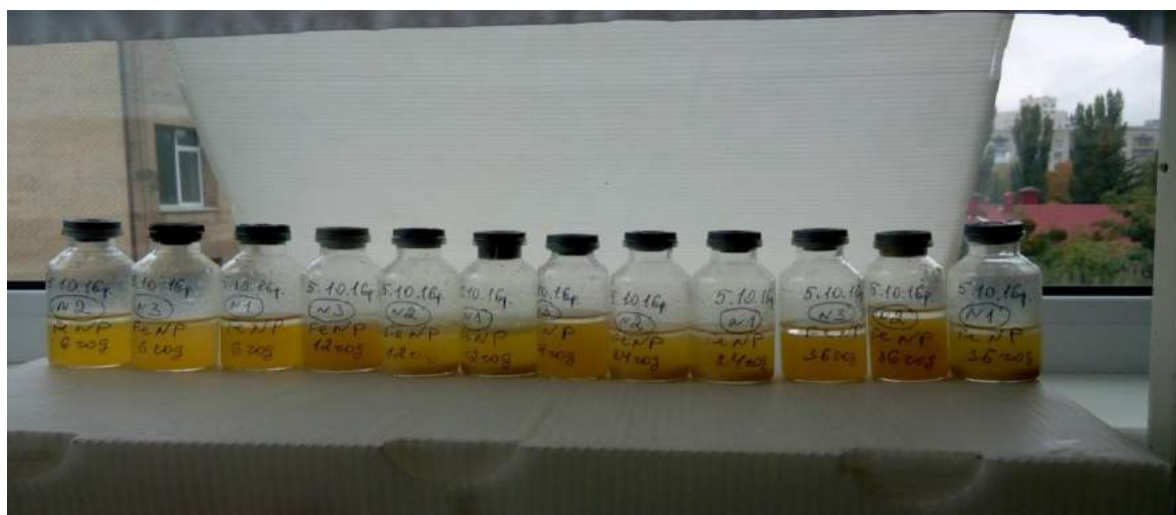


**Рис. 3. Візуалізація дослідів з вивчення ростових властивостей збудника *Cl. perfringens* тип А за його культивування у присутності різних концентрацій CuNP і режимів інкубації.**



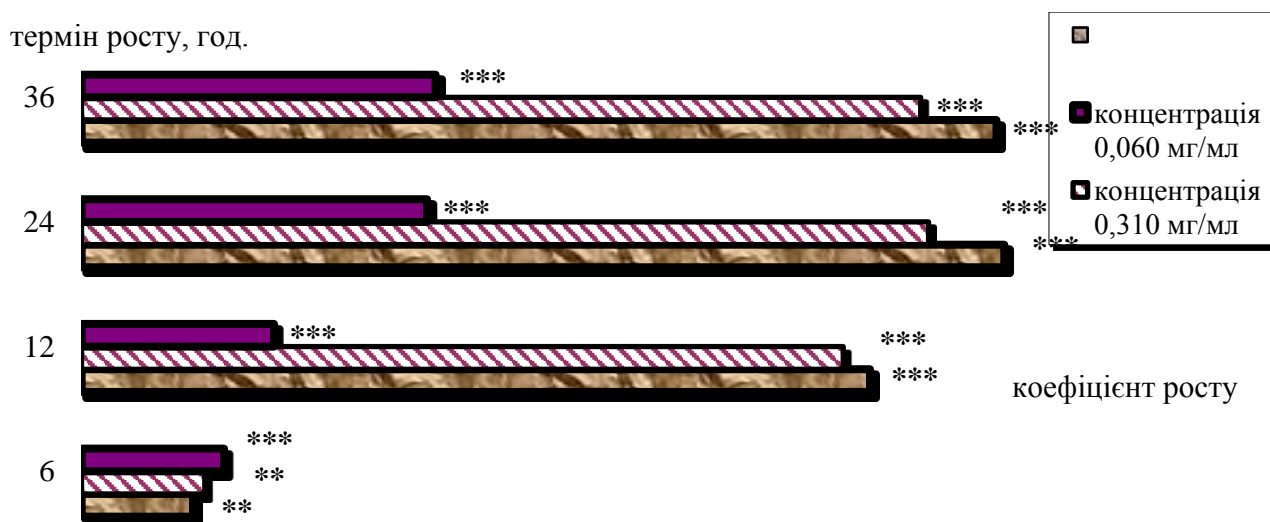
**Рис. 4. Показники об'ємів бактеріальної маси *C. perfringens* тип А за різних термінів культивування у присутності CuNP різної концентрації.**  
Примітка: \* –  $p > 0,05$ ; \*\* –  $p > 0,01$ ; \*\*\* –  $p > 0,001$ , порівняно із початковими даними.

За результатами проведених експериментів встановлено, що вплив наночастинок FeNP на метаболічні процеси клітин збудника *C. perfringens* тип А проявлявся особливо виразно, оскільки за його культивування упродовж від 6 до 36 год за присутності нанопрепарату у діапазоні концентрацій від 0,625 до 0,310 мг/мл об'єми бактеріальної маси за коефіцієнтом росту збільшувалися у десятки разів (рис. 5).



**Рис. 5. Особливості росту збудника *C. perfringens* тип А за різних концентрацій FeNP і режимів інкубації.**

Оптимальною індивідуальною концентрацією нанопрепарату заліза визначено 0,310 мг/мл, оскільки за такого його вмісту об'єм бактеріальної маси *C. perfringens* тип А упродовж 24 год культивування вірогідно зростав у 23,5 рази ( $p > 0,001$ ), порівняно із початковими даними (рис. 6).



**Рис. 6. Коефіцієнти росту культури *C. perfringens* тип А у присутності різних концентрацій наночастинок FeNP і режимів інкубації.**

Примітка.\* –  $p > 0,05$ ; \*\* –  $p > 0,01$ ; \*\*\* –  $p > 0,001$ , порівняно із початковими даними.

Таким чином, одержані результати експериментів з вивчення впливу наночастинок металів на метаболічні процеси в клітинах *C. perfringens* тип А сприяли визначенню пріоритетів щодо розробки біотехнології виготовлення вакцин, які містять наночастинок металів заліза і міді, як таких, що забезпечували накопичення найбільших об'ємів бактеріальної маси збудника у найкоротші терміни його культивування.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Встановлено, що для стимуляції метаболічних процесів культури *Cl. perfringens* тип А і одержання

значних об'ємів бактеріальної маси за короткі терміни культивування, оптимальні індивідуальні концентрації нанопрепаратів повинні складати: AuNP – 0,965 мкг/мл; AgNP – 10,0 мкг/мл; CuNP – 0,040 мг/мл; FeNP – 0,625 мг/мл.

Перспективами подальших досліджень є розробка та апробація вакцин, які містять наночастинки металів, проти анаеробних інфекцій тварин.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Романько Н.Є. Мембранотропний вплив наночастинок Ауруму та Аргентуму на інтенсивність окислювальних процесів у клітинах *Echerichia* за умов їх ліофілізації / Н.Є. Романько // Біологія тварин. – Т.12, № 2.– 2010.– С. 460–473.
2. Копил С.А. Перспективність ветеринарних препаратів з використанням нанотеннологічної сировини / С.А. Копил, Л.В. Крічковська // Біологія тварин. – Т. 12, № 2. – 2010. – С. 445–450.
3. Резніченко Л.С. Вплив металів-мікроелементів на біохімічні показники бактерій-пробіонтів / Л. С. Резніченко, Т. Г. Грузіна, В. В. Вембер, З. Р. Ульберг // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 91–101.
4. Чекман І.С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування / І.С. Чекман // Укр. біохімічний журнал. – 2009. – Т. 81, № 1. – С. 122–129.
5. Collins A.R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations // Molecular Biotechnology. – 2004. – Vol. 26, N 3 – P. 249–261.
6. Olive P.L. The Comet Assay: An overview of techniques // Methods Molecular Biology. – 2002. – Vol. 203. – P. 179–194.
7. Нанотехнології в сучасному сільському господарстві / О.В. Ситар, Н.В. Новицька, Н.Ю. Таран [та ін.] // Фізика живого. – 2010. – Т. 18. – С. 113–116.
8. Кундієв Ю.І. Проблема оцінки потенційних ризиків наноматеріалів та шляхи її вирішення // Ю.І. Кундієв., З.Р.Ульберг, М.І.Трахтенберг, І.С.Чекман, Т.Г. Грузіна, С.М. Дибкова, Л.С.Резніченко, М.Л. Марченко // Доповіді НАНУ. – 2013. – № 1. – С. 177–183.
9. Горбатюк О.І. Вивчення можливостей застосування нанорозмірного срібла в біотехнології виготовлення сучасних профілактичних засобів / Горбатюк О.І., Риженко Г.Ф., Жовнір О.М., Андріяшук В.О., Тютюн С.М., Уховська Т.М. // Науково-технічний бюлетень державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин. – Львів, 2016. – Вип. 17. – № 1. – С. 112–117.
10. Ульберг З.Р. Нанотехнології в медицині: роль колоїдно-хімічних процесів / З.Р. Ульберг, Т.Г. Грузіна, О.В. Карпов // Вісник НАНУ. – 2008. – № 8. – С. 28–41.
11. Наноматеріали в біотехнології / В.Б. Борисевич, В.Г. Каплуненко та ін. – К.: «Авіцена», 2010. – 415 с.
12. Івченко В.М. Імунологічні методи досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини: Методичні рекомендації / В.М. Івченко, П.І. Сидорчук, М.С. Павленко та ін. – Біла Церква, 1997. – 79 с.

**ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВИЗАЦИЮ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ *S. PERFRINGENS* ТИП А / Горбатюк О.И., Андріяшук В.А., Рыженко Г.Ф., Жовнір А.М., Резніченко Л.С., Дибкова С.Н., Уховская Т.Н., Тютюн С.Н.**

*В статті изложены материалы экспериментальных исследований по изучению влияния наночастиц золота (AuNP), серебра (AgNP), меди (CuNP) и железа (FeNP) в виде коллоидных растворов на активизацию метаболических процессов в клетках возбудителя *S. perfringens* тип А. Представлен анализ результатов и определены индивидуальные*



стимулирующие концентрации AuNP, AgNP, CuNP, FeNP для получения наибольших объемов бактериальной массы клеток возбудителя с целью использования данных для разработки биотехнологии изготовления вакцинных препаратов, которые содержат наночастишки металлов.

**Ключевые слова:** AuNP, AgNP, CuNP, FeNP, наночастишки, наноразмерность, *C. perfringens*.

**THE EFFECT OF METALS NANOPARTICLES ON ACTIVATION OF METABOLIC PROCESSES IN CELLS *C. PERFRINGENS* TYPE A** / Gorbatiuk O.I., Andriyaschuk V.A., Ryzhenko G.F., Zhovnir A.M., Reznichenko L.S., Dybkova S.N., Ukhovska T.M., Tiutiun S.M.

**Introduction.** One of the areas of metal nanoparticles application in biotechnology of vaccines manufacturing is their use in technological schemes as catalysts of metabolic processes in pathogens strains cells to obtain large amounts of bacterial mass.

**The goal of the work** was to determine the smallest stimulating concentration of gold (AuNP), silver (AgNP), copper (CuNP) and iron (FeNP) nanoparticles contributing to the accumulation of large amounts of *C. perfringens* type A bacterial mass.

**Materials and methods.** The work was performed in the V.Ryzhenko laboratory of anaerobic infections. AuNP, AgNP, CuNP, and FeNP were synthesized at the F.D. Ovcharenko Institute of Biocolloidal Chemistry of the NAS of Ukraine. To account the quantitative content of bacterial cells *C. perfringens* type A after culture in the presence of various concentrations of metal nanoparticles research.

Accounting of the quantitative content of *C. perfringens* type A bacterial cells was conducted after cultivation in the presence of various concentrations of metal nanoparticles.

**Results of research and discussion.** Cultivation of *C. perfringens* type A in the presence of AuNP in 0.965 µg/ml concentration for 36 hours facilitated significant increase of bacterial mass by growth coefficient in 2.06 times increase ( $p > 0.01$ ) as compared with the initial data.

The results of studies on the influence of AgNP on *C. perfringens* type A cells have shown that bacterial growth in the presence of 20.0 mcg/ml of the nanopreparation within 24 hours contributed to the increase of bacterial mass volume by growth coefficient in 4.02 times ( $p > 0.001$ ) compared to initial data.

The influence of CuNP in 0.040 mg/ml concentration on the pathogen growth stimulation showed increase of bacterial mass in 24 hours in 3.92 times ( $p > 0.001$ ) by growth coefficient compared to the data in the beginning of the experiment.

The optimal stimulating concentration of FeNP is determined to be 0.310 mg/ml as cultivation within 24 hours significantly increased bacterial mass of this pathogen in 23.5 times ( $p > 0.001$ ) compared to initial data.

**Conclusions and prospects for further researches.** The optimal stimulating concentrations of nanoparticles have been determined: AuNP – 0.965 mg/ml, AgNP – 10.0 mg/ml, CuNP – 0.040 mg/ml and FeNP – 0.625 mg/ml in the presence of which cultivation of *Cl. perfringens* type A for 24 hours provides obtaining significant volume of bacterial mass.

Prospects for further research are the development and testing of vaccines containing nanoparticles of metal against bacterial infections of animals.

**Keywords:** AuNP, AgNP, CuNP, FeNP, nanoparticles, *C. perfringens*.

#### REFERENCES

1. Roman'ko, M.Je. (2010). Membrantropnyj vplyv nanochastynok Aurumu ta Argentumu na intensyvništ' okysnjuval'nyh procesiv u klitynah *Escherichia* za umov i'h liofilizacii/regidratacii' [Membrantropnyy impact of nanoparticles Arhentumu aura and intensity of oxidative processes in cells *Echerichia* under conditions of freeze]. *Biologija tvaryn – Animal biology*, Vol. 12, 2, 460-473 [in Ukrainian].

2. Kopyl, S.A., & Krichkovska, L.V. (2010). Perspektyvnist' veterynarnykh preparativ z vykorystannjam nanotekhnologichnoi' syrovyny [The promise of veterinary drugs using nanotechnology materials]. *Biologija tvaryn – Animal biology*, Vol. 12, 2, 445-450 [in Ukrainian].
3. Rjeznichenko, L.S., Gruzina, T.G., Vember, V.V., & Ulberg, Z.R. (2008). Vplyv metaliv-mikroelementiv na biohimichni pokaznyky bakterij-probiontiv [Effect of trace metals, biochemical indices bacteria probionty]. *Ukr. biohim. zhurn. – The Ukrainian Biochemical Journal*, Vol. 80, 1, 91-101 [in Ukrainian].
4. Chekman, I.S. (2009). Nanochastynky: vlastyvoli ta per-spektyvy zastosuvannja [Nanoparticles: properties and prospects of application]. *Ukr. biohimichnyj zhurnal – The Ukrainian Biochemical Journal*, Vol. 81, 1, 122-129 [in Ukrainian].
5. Collins, A.R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations. *Molecular Biotechnology*. Vol. 26, 3, 249-261.
- Olive, P.L. (2002). The Comet Assay: An overview of techniques. *Methods Molecular Biology*, Vol. 203, 179-194.
6. Sytar, O.V., Novicka, N.V, Taran, N.U., Kalenska, S.M. & Ganchurin, V.V (2010). Nanotekhnologyy v sychasnomu silskomu gospodarstvy [Nanotechnology in modern agriculture]. *Phyzyka gyvogo – Physics of Alive*, Vol. 18, 3, 113-116 [in Ukrainian].
7. Kundijev, Ju.R., Ul'berg, I.Z., Trahtenberg, M.I., Chekman, I.S., Gruzina, T.G., & Dybkova, S.M., «et al.» (2013). Problema ocinky potencijnykh ryzykiv nanomaterialiv ta shljahy i'i vyrishennja [Problem assess the potential risks of nanomaterials and its solving]. *Dopovidi NANU – Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 1, 177-183 [in Ukrainian].
8. Gorbatjuk, O.I., Ryzhenko, G.F., Zhovnir, O.M., Andrijashhuk, V.O., Tjutjun, S.M., Uhovs'ka, T.M. (2016). Vyvchennja mozhylostej zastosuvannja nanorozmirnogo sribla v biotekhnologii' vygotovlennja suchasnykh profilaktychnykh zasobiv [Studying opportunities for application of nanosized silver in modern biotechnology manufacturing facilities care]. *Naukovo-tehnicnyj bjuleten' derzhavnogo naukovo-doslidnogo kontrol'nogo instytutu veterynarnykh preparativ ta kormovykh dobavok i instytutu biologii' tvaryn – Scientific and technical bulletin State Research Institute for Veterinary medicines and feed additives and animal biology institute*, Vol. 17, 1, 112-117 [in Ukrainian].
9. Ul'berg, Z.R., Gruzina, T.G., & Karpov, O.V. (2008). Nanotekhnologii' v medycyni: rol' koloidno-himichnykh procesiv [Nanotechnology in medicine: the role of colloid-chemical processes]. *Visnyk NANU – Herald the National Academy of Sciences of Ukraine*, 8, 28-41 [in Ukrainian].
10. Borysevych, V.B., Kaplunencko, V.G., Kosinov, M.V., Borysevych, B.V., Suhonos, V.P., Homyn, N.M. «et al.» (2010) Nanomaterialy v biologii'. Osnovy nanoveterynarii' : uchb. i prakt. posib. [Nanomaterials in biology. Fundamentals nanoveterynariyi]. Kiev: Avicena [in Ukrainian].
11. Imunologichni metody doslidzhen' u laboratorijah veterynarnoi' medycyny Metodychni rekomendacii' [Immunological research methods in laboratories of veterinary medicine]. (1997). *Manual*. Bila Tserkva [in Ukrainian].