

ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ

УДК 619:576.8.095.1
© 2018

Є.П. МІНЦЮК,
здобувач

С.А. НИЧИК,
доктор ветеринарних наук

О.І. ГОРБАТЮК,
кандидат ветеринарних наук

**С.М. ДИБКОВА,
Л.С. РЄЗНІЧЕНКО,
Г.Ф. РИЖЕНКО,**
кандидати біологічних наук

**В.О. АНДРІЯЩУК,
Т.М. УХОВСЬКА,
О.М. ЖОВНІР,**
кандидати ветеринарних наук

С.М. ТЮТЮН,
старший науковий співробітник

Інститут ветеринарної
медицини НААН, Україна –
Інститут біоколоїдної хімії
ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України, м. Київ
E-mail: goroliva@ukr.net
sdybkova@gmail.com
вул. Донецька, 30, м. Київ
бульвар Академіка Вернадського, 42, м. Київ

*Представлено аналіз результатів експеримента, пов'язаного з поліпшенням ростових властивостей поживного середовища для культивування анаеробних бактерій *C. septicum* за застосування наночастинок міді (CuNP) і удосконалення деяких технологічних прийомів у біотехнології виготовлення ефективних ВІЗ проти бактеріальних інфекцій тварин анаеробної етіології на етапі одержання висококонцентрованих антигенів. Визначено стимулюючий вплив CuNP на ростові і розмножувальні процеси *C. septicum* за його застосування в діапазоні концентрацій від 0,1 до 0,0031 мг/мл з настанням експоненціальної фази клостридій через 24 год. Мінімальна стимулююча концентрація CuNP становила 0,025 мг/мл і забезпечувала найбільше накопичення *C. septicum* – в 1,83 раза вище порівняно з контролем.*

Ключові слова: поживне середовище для культивування анаеробів, *C. septicum*, наночастинок міді, концентрація CuNP, бактеріальна маса.

Постановка проблеми. Останнім часом у тваринницьких господарствах України анаеробні інфекції тварин набули значного поширення, характеризуються асоційованим перебігом, створюють серйозні біологічні ризики для людини та завдають значних економічних збитків [1–3]. Застосування антибактеріальних препаратів у лікувальних схемах для тварин не забезпечує належного ефекту, тому одним із головних шляхів вирішення проблеми залишається специфічна профілактика інфекційних захворювань тварин анаеробної етіології [4, 5].

Біотехнологія виготовлення сучасних ефективних ветеринарних імунобіологічних засобів (ВІЗ) тісно пов'язана з нарощуванням бактеріологічної маси патогенних мікроорганізмів для використання як специфічні антигени, тому необхідна оптимізація існуючих та пошук і розробка нових, економічно вигідних поживних середовищ для культивування анаеробних збудників. Якісно новий рівень протидії інфекційним захворюванням анаеробної етіології може бути забезпечений завдяки застосуванню новітніх нанобіотехнологій [6–8]. Визначення особливостей впливу наночастинок металів на патогенні бактеріальні клітини відкриває нові перспективи їхнього застосування в біотехнології виготовлення специфічних профілактичних засобів, тому і є актуальною проблемою сьогодення [9, 10]. У біотехнології виготовлення високоякісних, ефективних і недорогих вакцин пріоритетним напрямом є поліпшення ростових якостей поживних середовищ через додавання до їхнього складу наночастинок металів для одержання великих об'ємів бактеріальної маси патогенних збудників із їхньою подальшою інактивацією і використанням як специфічні антигени [11–15].

Аналіз останніх досліджень. Публікації, котрі стосуються застосування на практиці новітніх технологій, показали, що розвиток сучасних методів синтезу наночастинок металів є одним із провідних напрямів світової науки і практики, який значно розширює можливості їхнього застосування в різних галузях медицини, зокрема в біотехнології виготовлення ветеринарних імунобіологічних засобів [16, 17]. Вивчення особливостей

впливу наночастинок металів на процеси обміну бактеріальних клітин відкриває нові перспективи їхнього застосування у практичній ветеринарній та гуманній медицині [18].

Останні дослідження науковців указують на те, що в біотехнології виготовлення вакцин застосування наночастинок металів можна здійснювати у двох напрямках: як окремого складового компонента вакцинного препарату або як каталізатора метаболічних процесів у клітинах виробничих штамів мікроорганізмів для одержання великих об'ємів бактеріальної маси за використання нанопрепаратів на певному етапі технологічного процесу [19–21]. Ученими визначено, що вивчення характеру впливу наночастинок металів на модуляцію біохімічних процесів у клітинах патогенних культур забезпечує можливість їхнього контролю і регулювання інтенсивності фізіолого-біохімічних реакцій та сприяє удосконаленню біотехнології виготовлення вакцин препаратів [22]. Вирішенню питань з удосконалення деяких технологічних прийомів у біотехнології виготовлення ефективних ВІЗ проти бактеріальних інфекцій тварин анаеробної етіології на етапі одержання висококонцентрованих антигенів анаеробних збудників за застосування наночастинок металів для поліпшення ростових властивостей поживних середовищ присвячена ця стаття.

Метою роботи було розрахувати діапазон стимулюючих концентрацій наночастинок міді (CuNP), доданих до складу рідких поживних середовищ за культивування *C. septicum*; визначити найменший рівень CuNP, який би забезпечував накопичення найбільших об'ємів бактеріальної маси збудника, та встановити тривалість експоненціальної фази дослідних клостридій, як найкоротшого терміну одержання висококонцентрованого антигену *C. septicum*.

Матеріал і методи. Робота виконана у лабораторії анаеробних інфекцій ім. В. Риженка ІВМ НААН. Наночастинки міді (CuNP) синтезовані в Інституті біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України у вигляді колоїдного розчину з вихідною концентрацією 3,2 мг/мл за металом та розмірністю 20 нм.

Нанопрепарат CuNP має паспорт безпеки з тестами на відсутність цитотоксичності, генотоксичності і мутагенності наночастинок міді на живі об'єкти.

Для вирощування культур анаеробів використовували традиційне рідке живильне середовище на основі бульйону Хоттінгера з умістом амінного азоту на рівні $200,0 \pm 20,0$ мг/%, печінкового екстракту у співвідношенні 3 : 1 і додаванням стерильного 40,0%-вого розчину глюкози в кількості до 10,0 % *ex tempore*. Для проведення експериментальних досліджень до традиційного рідкого середовища для культивування анаеробів *ex tempore* додавали наночастинки міді. Після виготовлення рідких живильних середовищ для культивування анаеробів, призначених для постановки експерименту, був проведений бактеріологічний контроль їхньої якості за використання анаеробної тест-культури *C. perfringens* ATCC 13124 (одержаної із ДНКІБШМ, м. Київ) та підтверджена відповідність виготовленого середовища вимогам [23].

Для постановки досліду до виготовленого традиційного середовища для анаеробів в асептичних умовах додавали наночастинки міді, проводячи їхні дворазові розведення в діапазоні від 1,600 до 0,0008 мг/мл. Як об'єкт дослідження для посівів на поживні середовища із відповідними концентраціями CuNP використовували суспензію добової культури *C. septicum* штаму "Черкаський-97". Для контролю росту суспензію добової культури означеного збудника висівали на традиційне рідке живильне середовище без додавання нанопрепарату. Забезпечували умови росту, близькі до анаеробних, за інкубації бактеріальних клітин дослідних клостридій шляхом нанесення на поверхню середовища з посівами стерильної вазелінової олії.

Вимірювання об'ємів бактеріальної маси *C. septicum* у контролі і досліді проводили на початку та через 12, 24, 36 і 48 год культивування за температури 37 °С за оптичним стандартом каламутності [24–26].

Використані методи досліджень: мікробіологічний, варіаційно-статистичний.

Результати дослідження та їх обґрунтування. Для накопичення бактеріальної

маси за культивування мікроорганізмів однією з вирішальних умов є якість поживних середовищ. Результати досліджень показали, що після додавання CuNP у певних концентраціях до складу рідких поживних середовищ для вирощування анаеробів останні проявляли яскраво виражену біологічну активність та позитивно впливали на ріст і розмноження *C. septicum* штаму "Черкаський-97". За порівняльним аналізом одержаних показників контролю росту в звичайних рідких поживних середовищах для культивування анаеробних мікроорганізмів та середовищах з відповідними концентраціями CuNP встановлено, що в контролі (поживне середовище без наночастинок міді) експоненціальна фаза в бактерій *C. septicum* спостерігалася до 24 год культивування. Про це свідчили дані, підтвержені кількісним накопиченням бактеріальних клітин дослідних клостридій в 1,0 см³ середовища на цей період, що перевищувало вірогідно в 5,5 рази ($p < 0,001$) початкові дані (таблиця).

Показники накопичення бактерій *C. septicum* у проміжку між 24 і 36 год свідчили про те, що в цей період культивування закінчувалися експоненціальна і стаціонарна фази росту і розмноження збудника та наставала фаза відмирання, коли кількість дослідних клостридій зменшувалася (рис. 1).

Нами було встановлено, що об'єми бактеріальної маси *C. septicum* через 36 і 48 год культивування зменшувалися відповідно на 5,7 і 6,6 % порівняно з попередніми даними.

Іони міді є обов'язковим компонентом мінеральних речовин за хімічним складом бактеріальних клітин, оскільки входять до їхньої структури та впливають на ферментативну активність анаеробних мікроорганізмів. В експерименті з поживними середовищами за відповідних концентрацій CuNP експоненціальна фаза в бактерій *C. septicum* наставала протягом 24 год культивування, що підтверджено кількісними показниками накопичення клостридій. Проте, порівняно з контролем, одержані об'єми бактеріальної маси збудника протягом означеного періоду були значно вищими. Нами була виявлена стимуляція росту і розмноження *C. septicum* у рідких поживних середовищах за присут-

Результати досліджень з вивчення особливостей впливу концентрацій наночастинок міді (CuNP) на метаболічні процеси *C. septicum* штаму "Черкаський-97" за різних термінів культивування в анаеростаті та температури $37 \pm 0,5$ °C ($M \pm m, n=6$)

Об'єкт досліджень	Показники росту культури <i>C. oedematiens</i> (novu) у поживних середовищах за присутності CuNP у різних концентраціях											
	кінцева концентрація CuNP у рідкому поживному середовищі, мг/мл											
	1,6000	0,8000	0,4000	0,2000	0,1000	0,0500	0,0250	0,0125	0,0063	0,0031	0,0016	0,0008
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Початкові дані												
Пробірки: контрольні (об'єм культури без CuNP)	0,72±0,13											
дослідні (об'єм культури з умістом CuNP)	2,90±0,13	1,80±0,01	1,80±0,01	1,80±0,10	1,00±0,13	1,00±0,07	1,00±0,03	0,90±0,01	0,75±0,01	0,75±0,03	0,75±0,07	0,75±0,011
уміст CuNP (за стандартом каламутності)	2,15±0,67	1,05±0,03	1,05±0,03	1,05±0,01	0,25±0,03	0,25±0,01	0,25±0,07	0,15±0,01	0,03±0,001	0,03±0,003	0,03±0,001	0,03±0,001
фактичний приріст мікробних клітин збудника	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
° коефіцієнт росту	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Термін культивування 12 год												
Пробірки: контрольні (об'єм культури без CuNP)	5,44±0,24***											
дослідні (об'єм культури з умістом CuNP)	4,50±0,67	4,20±0,17	4,90±0,11	5,40±0,07	6,00±0,17	6,60±0,11	8,40±0,13	7,20±0,11	6,00±0,11	5,40±0,03	4,00±0,07	3,60±0,01
фактичний приріст мікробних клітин збудника	2,35±0,33	3,15±0,07	3,85±0,03	4,35±0,03	5,75±0,07	6,35±0,03*	8,15±0,11***	7,05±0,37***	5,97±0,13	5,37±0,03	3,97±0,01	3,57±0,07
° коефіцієнт росту	0,43±0,001	0,58±0,003	0,71±0,001	0,80±0,007	1,06±0,001	1,17±0,003*	1,50±0,007***	1,30±0,067***	1,10±0,003	0,99±0,001	0,73±0,007	0,66±0,001
Термін культивування 24 год												
Пробірки: контрольні (об'єм культури без CuNP)	8,72±0,16***											
дослідні (об'єм культури з умістом CuNP)	6,00±1,17	6,05±0,33	6,60±0,67	6,60±1,670	10,20±1,67	10,50±0,67	16,20±0,37	13,60±1,67	12,80±2,33	9,80±1,67	8,45±0,33	7,60±0,13
фактичний приріст мікробних клітин збудника	3,85±0,01	5,00±0,03	5,55±0,13	5,55±0,01	9,95±0,67*	10,25±0,17*	15,95±1,17***	13,45±1,13***	12,77±0,67***	9,77±1,13*	8,42±1,17	7,57±0,13

Продовження таблиці												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
° коефіцієнт росту	0,44±0,001	0,57±0,100	0,64±0,03	0,64±0,11	1,14±0,17*	1,18±0,13*	1,83±0,01***	1,54±0,03***	1,46±0,13***	1,12±0,17*	0,97±0,01	0,87±0,01
Термін культивування 36 год												
Пробірки: контрольні (об'єм культури без CuNP)	8,32±0,44***											
дослідні (об'єм культури з умістом CuNP)	6,60±0,33	6,32±1,13	6,68±0,13	6,88±1,17	9,30±0,07	11,00±0,67	12,60±1,13	11,02±0,13	9,80±0,07	8,60±0,17	7,52±0,67	6,20±0,01
фактичний приріст мікробних клітин збудника	4,45±0,33	5,27±0,01	5,63±0,33	5,83±0,13	9,05±0,67	10,75±1,17**	12,35±0,13***	10,87±1,13**	9,77±0,67*	8,57±0,27	7,49±0,13	6,17±0,01
° коефіцієнт росту	0,54±0,01	0,63±0,01	0,68±0,003	0,70±0,01	1,09±1,03	1,29±1,13**	1,48±0,01***	1,31±0,13**	1,17±0,17*	1,03±0,01	0,90±0,03	0,74±0,07
Термін культивування 48 год												
Пробірки: контрольні (об'єм культури без CuNP)	8,16±0,80***											
дослідні (об'єм культури з умістом CuNP)	7,20±1,07	6,60±1,13	6,75±0,13	7,15±0,67	8,45±0,33	10,50±0,13	9,10±0,01	8,45±0,67	7,80±1,17	7,20±1,13	6,60±0,01	4,80±0,13
фактичний приріст мікробних клітин збудника	5,05±0,13	5,55±0,13	5,70±0,67	6,10±0,13	8,20±1,17	10,25±0,13**	8,85±0,67	8,30±1,17	7,77±0,17	7,17±0,13	6,57±0,13	4,77±0,17
° коефіцієнт росту	0,62±0,01	0,68±0,01	0,70±0,01	0,75±0,03	1,01±0,01	1,26±0,13**	1,10±0,13	1,02±0,17	0,95±0,01	0,88±0,001	0,81±0,003	0,60±0,01

Примітка. ° Коефіцієнт росту – це відношення кількісного накопичення бактеріальних клітин збудника в досліді до аналогічних даних у контролі росту; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ порівняно з показниками контролю росту; *** $p < 0,001$ порівняно з початковими показниками.

ності в їхньому складі CuNP у діапазоні концентрацій від 0,1 до 0,0031 мг/мл. У період експоненціальної фази росту і розмноження дослідних клостридій об'єми бактеріальної маси збудника зростали в 1,12–1,83 раза вірогідно ($p < 0,001$) порівняно з даними контролю (рис. 2).

Найменшою стимулюючою дозою CuNP у складі рідкого поживного середовища визначено вміст нанопрепарату на рівні 0,025 мг/мл. Присутність наночастинок міді в такій концентрації найліпше активізувала метаболічні процеси дослідних клостридій; об'єм бактеріальної маси *C. septicum* був

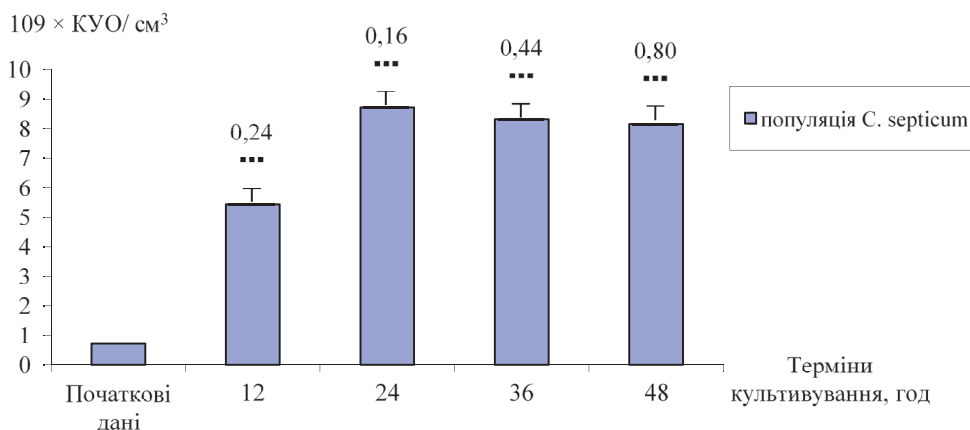


Рис. 1. Крива росту популяції *C. septicum* штаму “Черкаський-97” за культивування на традиційному рідкому поживному середовищі для анаеробів протягом 48 год (контроль росту)

Примітка. *** p<0,001 порівняно з початковими даними.

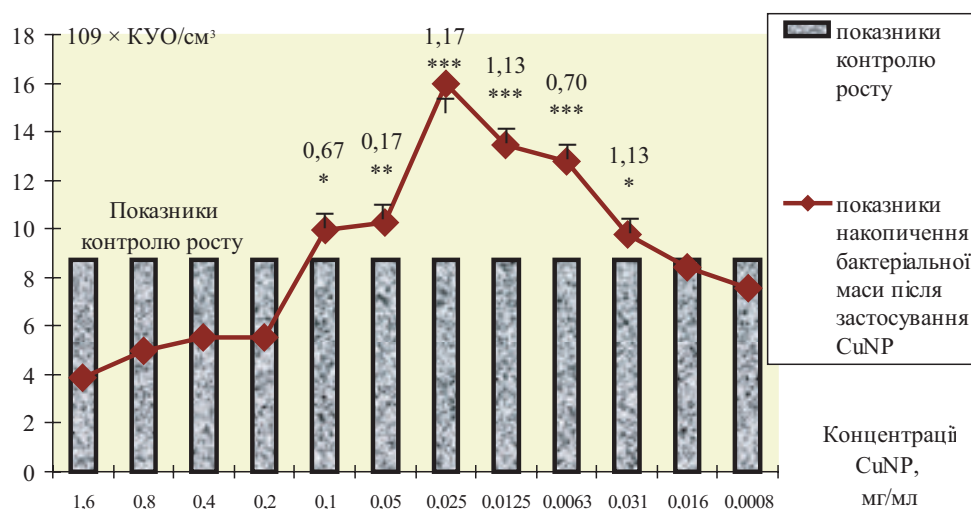


Рис. 2. Накопичення бактеріальних клітин *C. septicum* штаму “Черкаський-97” протягом 24 год після застосування різних концентрацій CuNP у складі рідких поживних середовищ для анаеробів

Примітка. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 відносно показників контролю росту.

найвищим, оскільки зростав вірогідно на 44,7 % (p<0,001) порівняно з показниками контролю.

Аналіз результатів досліджень показав, що концентрації CuNP понад 0,1 мг/мл у

складі рідкого поживного середовища для анаеробів виявилися токсичними, оскільки показники фактичного приросту бактеріальної маси збудника в 1,0 см³ середовища виявилися нижчими порівняно з аналогічними

показниками росту в контролі, що підтверджувало інгібування метаболічних процесів бактеріальних клітин *C. septicum*. Наночастинки міді у складі рідкого поживного середовища на рівні, нижчому від 0,0031 мг/мл, не проявляли стимулюючого впливу на дослідні клостридії. За таких низьких концентрацій CuNP дослідні клостридії розмножувалися значно повільніше і об'єми бактеріальної маси були нижчими, ніж у контролі.

Нами встановлено, що через 36 год культивування *C. septicum* наставала фаза відмирання бактеріальних клітин, оскільки за одержаними результатами з визначення характеру впливу різних концентрацій наночастинок міді на ростові і розмножувальні процеси дослідних клостридій було засвід-

чене кількісне зменшення об'ємів бактеріальної маси збудника на 19,1 % вірогідно ($p < 0,05$) порівняно з попередніми показниками. При цьому діапазон стимулюючих концентрацій CuNP залишався на попередньому рівні.

Через 48 год культивування *C. septicum* у рідких поживних середовищах, за присутності наночастинок міді, фаза відмирання бактеріальних клітин поглиблювалася через дефіцит необхідних речовин у поживному середовищі, накопичення токсичних продуктів власного метаболізму та аутолізу під дією власних ферментів, оскільки кількісне накопичення бактерій виявилось нижчим на 22,3 % вірогідно ($p < 0,001$) порівняно з попередніми показниками.

Висновки

Аналізуючи одержані результати досліджень дійшли до висновку, що додавання нанопрепарату CuNP в діапазоні концентрацій від 0,1 до 0,0031 мг/мл до складу рідкого поживного середовища для анаеробів поліпшує його ростові властивості; сприяє стимуляції росту і розмноження бактерій *C. septicum* від 1,12 до 1,83 раза вірогідно ($p < 0,001$) порівняно з даними контролю, за

їхнього культивування протягом 24 год забезпечує повний технологічний прийом щодо підвищення концентрації антигенів без декантациї (зливанням частини рідкої фракції антигену) і одержання вакцини в повному об'ємі, поліпшуючи її якість, оскільки зберігається вся кількість розчинних антигенів проти токсинів, зменшуючи собівартість вакцинних препаратів.

Бібліографія

1. Бактеріологічний моніторинг анаеробних інфекцій та специфічні профілактичні засоби для попередження біоризиків в Україні / О.М. Жовнір, О.І. Горбатюк, Т.О. Гаркавенко, В.О. Андріяшук, Г.Ф. Риженко, Т.М. Уховська, С.М. Тютюн // Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки. – Одеса, 2017. – Вип. 83. – С. 78–85.
2. Уховська Т.М. Бактеріальні антропоознози тварин та способи підвищення біобезпеки тваринницької продукції / Т.М. Уховська, О.І. Горбатюк // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції молодих учених “Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин”. – К., 2017. – С. 88–89.
3. Підвищення рівня безпеки тваринницької продукції за застосування специфічних профілактичних засобів проти антропоознозів тварин бактеріальної етіології / Т.М. Уховська, О.І. Горбатюк, В.О. Андріяшук, С.М. Тютюн // Регіональний науковий симпозіум в рамках концепції

“Єдине здоров'я”, за підтримки ПЗСБД в Україні (24–28 квітня 2017 р.). – К., 2017. – 45 с.

4. Колтукова Н.В. Коліциногенна активність та чутливість до антибіотиків колекційних та свіжовиділених штамів *Shigella flexneri* та *Shigella sonnei* / Н.В. Колтукова, Т.Л. Серебрякова, В.В. Яновська // Микробиологический журнал. – 2005. – Вип. 67, № 5. – С. 69–79.

5. Теоретичне та експериментальне обґрунтування використання нанотехнологій для створення імунобіологічних препаратів / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк, В.О. Андріяшук, С.М. Тютюн, В.А. Тютюн, О.М. Жовнір, Т.М. Мазигула, П.П. Каменчук, О.В. Рудой, Н.А. Теплюк, Л.С. Мілько // Ветеринарна біотехнологія. – 2013. – № 23. – С. 235–239.

6. Копил С.А. Перспективність ветеринарних препаратів з використанням нанотехнологічної сировини / С.А. Копил, Л.В. Крічковська // Біологія тварин. – Т. 12, № 2. – 2010. – С. 445–450.

7. Чекман І.С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування / І.С. Чекман // Укр. біохімічний журнал. – 2009. – Т. 81, № 1. – С. 122–129.
8. Нанотехнології в сучасному сільському господарстві / О.В. Ситар, Н.В. Новицька, Н.Ю. Таран [та ін.] // Фізика живого. – 2010. – Т. 18. – С. 113–116.
9. Вивчення можливостей застосування нанорозмірного срібла в біотехнології виготовлення сучасних профілактичних засобів / О.І. Горбатюк, Г.Ф. Риженко, О.М. Жовнір, В.О. Андріячук, С.М. Тютюн, Т.М. Уховська // 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. 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.
11. Застосування наночастинок заліза у складі живильного середовища для культивування анаеробів за біотехнології виготовлення вакцин / Є.П. Минцюк, С.А. Ничик, О.І. Горбатюк, В.О. Андріячук, Г.Ф. Риженко, О.М. Жовнір, Т.М. Уховська, Б.М. Терешко, С.М. Тютюн // Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. – 2017. – № 2(63), т. 3. – С. 138–142.
12. Романько Н.С. Мембранотропний вплив наночастинок Ауруму та Аргентуму на інтенсивність окиснювальних процесів у клітинах *Escherichia* за умов їх ліофілізації / Н.С. Романько // Біологія тварин. – Т.12, № 2. – 2010. – С. 460–473.
13. Вплив металів-мікроелементів на біохімічні показники бактерій-пробіотів / Л.С. Резніченко, Т.Г. Грузіна, В.В. Вембер, З.Р. Ульберг // Укр. біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 91–101.
14. Скринінг наночастинок металів для біотехнології ветеринарних імунобіологічних засобів / Г.Ф. Риженко, С.М. Дибкова, О.І. Горбатюк, В.О. Андріячук, О.М. Жовнір, Т.М. Уховська, С.М. Тютюн, Л.С. Резніченко, Т.Г. Грузіна // Ветеринарна біотехнологія. – 2017. – Вип. 30. – С. 206–213.
15. Synthesis and comparative characteristics of biological activities of (La, Sr)MnO₃ and Fe₃O₄ nanoparticles / O. Shydlovska, N. Zholobak, S. Dybkova, S. Osinsky, L. Bubnovskaya, O. Yelenich, S. Solopon, A. Belous // Eur. J. Nanomed. – 2017. – 9(1). – P. 33–43.
16. Використання наночастинок металів у виробництві ветеринарних імунобіологічних засобів для підвищення їх ефективності: методичні рекомендації / [Г.Ф. Риженко, С.А. Ничик, О.І. Горбатюк, В.О. Андріячук, О.М. Жовнір, Т.М. Уховська, С.М. Тютюн, Л.С. Резніченко, С.М. Дибкова, Т.Г. Грузіна]. – К., 2017. – 24 с.
17. Collins A.R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations / A.R. Collins // Molecular Biotechnology. – 2004. – Vol. 26, № 3 – P. 249–261.
18. Наноматеріали в біотехнології / В.Б. Борисевич, В.Г. Каплуненко та ін. – К.: “Авіцена”, 2010. – 415 с.
19. Olive P.L. The Comet Assay: An overview of techniques / P.L. Olive // Methods Molecular Biology. – 2002. – Vol. 203. – P. 179–194.
20. Оцінка безпеки ветеринарних імунобіологічних засобів, які містять наночастинки металів, у процесі розробки: методичні рекомендації / [Риженко Г.Ф., Горбатюк О.І., Андріячук В.О., Жовнір О.М., Уховська Т.М., Тютюн С.М., Дибкова С.М., Резніченко Л.С., Грузіна Т.Г.]. – К., 2017. – 21 с.
21. Патент на КМ України “Спосіб оцінки генотоксичних властивостей ветеринарних імунобіологічних засобів, які містять наночастинки металів”, патент № 117662; заявл. 18.07. 2016.; опубл. 10.07.2017, Бюл. № 13.
22. 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.
23. ISO/TS 11133-2:2003 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Настанови щодо готування та виробництва поживних середовищ. Частина 2. Практичні настанови щодо випробування культуральних середовищ.
24. Чекалов В.П. Методичні аспекти обліку чисельності бактеріобентосу в умовах сезонних коливань температури / В.П. Чекалов // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2012. – Вип. 20, т. 2. – С. 101–107.
25. Методи імунологічних досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини: методичні рекомендації / В.М. Івченко, М.С. Павленко, О.І. Горбатюк та ін. – Белая Церковь, 2003. – С. 16–20.
26. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований / И.А. Ойвин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1960. – № 4. – С. 396–401.