

УДК 579.695

О.Г. Горшкова

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +38(068) 278 02 05, e-mail: helen-good@ukr.net

ОЦІНКА ПАТОГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БАКТЕРІЙ-ДЕСТРУКТОРІВ ВАЖКООКИСНЮВАЛЬНИХ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК

Мета. Оцінка потенційно патогенних властивостей бактерій-деструкторів органічних сполук на моделях культури клітин людини і тварин та на білих мишах. **Методи.** Оцінку патогенних властивостей за показниками інвазивності та цитотоксичності проводили *in vitro* на культурах клітин людини Нер-2 та тварин L20B, а також *in vivo* на лабораторних білих мишах. **Результати.** Експериментально підтверджено, що протягом 96 годин спостережень бактерії-деструктори не викликали морфологічних змін і деструкцію моношару перещеплюваних культур клітин людини Нер-2 і миші L20B. Бактерії не проникали в цитоплазму і не інфікували клітини, що свідчило про відсутність в них інвазивних і цитотоксичних властивостей. У лабораторних білих мишей клінічних ознак токсикозу та загибелі тварин не відмічалося. Протягом всього періоду спостереження всі тварини зберігали життєздатність, добре поїдали корм, змін з боку хутряного покриву не помічено. **Висновок.** Результати досліджень свідчать про те, що штами бактерій-деструкторів *Bacillus subtilis* ONU551, *Brevibacillus centrosporus* Ф14, *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *Pseudomonas maltophilia* ONU329 та *Pseudomonas ceracia* ONU327 не володіють інвазивними та цитотоксичними властивостями у культурах клітин людини Нер-2 і тварин L20B, а також вірулентністю для лабораторних білих мишей.

Ключові слова: бактерії-деструктори, патогенність, інвазивні та цитотоксичні властивості, культури клітин людини і тварин, лабораторні тварини.

Бурхливий розвиток промисловості призвів до забруднення біосфери різноманітними важкоокиснювальними органічними поліюантами, що володіють токсичними, мутагенними, тератогенними та канцерогенними властивостями [1, 14]. Особливу небезпеку становлять важкоокиснювальні сполуки – вуглеводні нафти, фенол, поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ), синтетичні поверхнево-активні речовини (ПАР), зокрема біологічно «жорсткі» ароматичної природи – алкілбензолсульфонати, оксигетильовані алкіл феноли та інш. [10, 15].

У зв'язку з цим особливо важливе значення мають дослідження, присвячені розробці методів детоксикації органічних сполук. Одним з перспективних напрямків стало використання біохімічної діяльності мікроорганізмів, що дозволило розробити ефективні методи очистки стічних вод, морської



води, нафтозабрудненого ґрунту [3, 4, 12, 13]. Однак практичне застосування штамів бактерій-деструкторів можливе тільки за відсутності у них патогенних властивостей. Тому вивчення взаємодії бактерій-деструкторів з живими об'єктами у модельних системах, зокрема взаємовідносини між мікроорганізмами та макроорганізмами становить практичний інтерес.

У літературі є дані щодо використання клітинних культур для диференціації авірулентних штамів, визначення інвазивних та цитотоксичних властивостей бактерій, у тому числі потенційних біодеструкторів [2, 8, 11, 16, 17].

Метою роботи була оцінка потенційно патогенних властивостей бактерій-деструкторів важкоокиснювальних органічних сполук на моделях культур клітин людини і тварин та на білих мишах.

Матеріали та методи

Об'єктом досліджень були 5 штамів бактерій-деструкторів важкоокиснювальних органічних сполук, відібраних для використання у біотехнологіях очистки стічних вод, морської води та ґрунту з колекції культур мікроорганізмів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова: деструктори фенолу – *Bacillus subtilis* ONU551 (Ф13) і *Brevibacillus centrosporus* Ф14, ізольовані зі фармацевтичних стічних вод; деструктори ПАВ, фенолу та вуглеводнів нафти – *Pseudomonas fluorescens* ONU328 та штам *Pseudomonas maltophilia* ONU329, ізольований з морської води, та виділений з нафтозабрудненого ґрунту штам *Pseudomonas cepacia* ONU327; деструктор азотвмісних органічних барвників – *Pseudomonas aeruginosa* 2-9, ізольований з промислових стічних вод килимного комбінату [4, 15].

Бактерії зберігали на м'ясопептонному агарі в пробірках з гумовими корками, під шаром вазелінової олії.

Оцінку патогенних властивостей проводили на рівнях клітин та організмів: *in vitro* на культурах клітин людини Нер-2 та тварин L20В, а також *in vivo* на лабораторних білих мишах [4, 5, 6, 9].

Для вивчення цитотоксичних та інвазивних властивостей бактерій-деструкторів використовували перещеплювані культури клітин карциноми гортані людини Нер-2 та фібробластів мишей L20В. При культивуванні клітин застосовували середовище 199, що містило 10% сироватки великої рогатої худоби. Посівна доза складала $3\text{--}5 \times 10^4$ клітин у 1 мл ростового середовища. Культивували клітини за температури 37 °С протягом 72 год до утворення моношару клітин.

Інокуляцію культури клітин здійснювали суспензією 18-годинної культури бактерій, яку вирощували на м'ясопептонному агарі за температури 30 °С. Посівна доза складала 1×10^5 клітин бактерій у 1 мл ростового середовища 199.

Після інокуляції культур клітин бактеріями, через визначені інтервали часу (24, 48, 72, 96 год) здійснювали цитологічні дослідження нативних незабарвлених і постійних зафіксованих фіксатором Буена і забарвлених гематоксилін-еозином препаратів.

Патогенні властивості бактерій-деструкторів *in vitro* на культурі клітин оцінювали за 2-ма показниками:



– цитотоксичну дію через 24–96 год визначали візуально при мікроскопічному дослідженні постійних препаратів за морфологічними змінами окремих клітин і ступенем дегенерації моношару, яку враховували за кількістю нежиттєздатних клітин. Через 96 год знімали клітини з поверхні скла за допомогою скляного шпателя з гумовою насадкою, забарвлювали трепановим синім (у концентрації 0,01%), при цьому нежиттєздатні клітини забарвлювалися дифузно у синій колір, їх кількість виражали у відсотках (%). Критерієм цитотоксичності було збільшення кількості нежиттєздатних клітин у моношарі до 10% і більше у порівнянні з контролем;

– інвазивну активність оцінювали через 24–96 годин за кількістю інфікованих бактеріями клітин моношару у постійних забарвлених препаратах, виражали у відсотках (%). Критерій інвазивності – поява у моношарі клітин контамінованих мікроорганізмами [5].

Дослідження вірулентності бактерій-деструкторів здійснювали у гострих дослідах *in vivo* на моделі білих мишей. Використовували безпородних статевозрілих білих мишей вагою 18 ± 2 г. Тварини були адаптовані протягом 15 діб до умов утримання. Було сформовано 10 дослідних і одна контрольна група тварин по чотири особини одного віку в кожній. Суспензію добових культур бактерій концентрацією 4×10^9 і 40×10^9 КУО/мл готували на стерильному фізіологічному розчині. Досліджуваний матеріал вводили по 0,5 мл внутрішньочеревинно за допомогою ін'єкцій. Мишам контрольної групи вводили 0,5 мл фізіологічного розчину. Спостереження за зараженими тваринами вели протягом 14 діб. LD_{50} визначали за методом Ріда і Менча. Критерієм авірулентності слугувала відсутність інфекційної патології та загибелі мишей протягом 14 діб. Контролювали поведінкові реакції та фізіологічний стан мишей [6, 9].

Експериментальні дослідження на культурах клітин проводили у п'ятикратному повторі, на лабораторних тваринах – у чотирьохкратному повторі. Математичне опрацювання результатів досліджень здійснювали з використанням комп'ютерної програми MSExcel [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати дослідження патогенних властивостей бактерій-деструкторів органічних сполук *in vitro* та *in vivo* наведені у таблиці.

З наведених у таблиці даних видно, що протягом 96 год спостережень бактерії *B. subtilis* ONU 551, *B. centrosporus* Ф14, *P. ceracia* ONU 327, *P. fluorescens* ONU 328 та *P. maltophilia* ONU 329 не викликали морфологічних змін і деструкцію моношару перещеплюваних культур клітин людини Нер-2 і миші L20B, не проникали в цитоплазму і не інфікували клітини, тобто цитотоксичні та інвазивні властивості в них були відсутні.

Штам *P. aeruginosa* 2-9 вже в першу добу спостережень викликав виражений цитопатичний ефект у моношарі перещеплюваних культур клітин людини Нер-2 та тварин L20B, який проявлявся у округленні клітин, вакуолізації та грануляції цитоплазми, деформації, зморщуванні та пікнозі ядер. Реєструвалася повна дегенерація клітин моношару перещеплюваних культур клітин Нер-2 та L20B, що свідчило про цитотоксичну активність штаму *P. aeruginosa*



Таблиця

Результати оцінки патогенних властивостей бактерій-деструкторів органічних сполук *in vitro* та *in vivo*

Table

Results of evaluation of pathogenic properties of bacteria-destructors of organic compounds *in vitro* and *in vivo*

Штам	Культура клітин (експозиція 96 год)				Тварини*
	людини Нер-2		миші L20B		білі миші
	Цитотоксичні	Інвазивні	Цитотоксичні	Інвазивні	Вірулентні
	Деструкція моношару, %	Кількість інфікованих клітин, %	Деструкція моношару, %	Кількість інфікованих клітин, %	Кількість тварин, що загинули, %
<i>B. subtilis</i> ONU551 (Ф13)	0	0	0	0	0
<i>B. centrosporus</i> Ф14	0	0	0	0	0
<i>P. ceracia</i> ONU327	0	0	0	0	0
<i>P. fluorescens</i> ONU328	0	0	0	0	0
<i>P. maltophilia</i> ONU329	5±1	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i> 2-9	97±12	100	100	100	75±8

Примітка: * експозиція 14 діб

Note: * 14 daysexposure

2-9. Бактерії активно проникали до клітин, у цитоплазмі реєстрували їх скупчення біля ядра. Через 24 год експозиції майже половина клітин моношару була інфікована. Через 96 годин число інфікованих клітин сягало 100%, моношар був повністю зруйнований – кількість нежиттєздатних клітин сягала 97±12 – 100%, що свідчило про наявність у бактерій *P. aeruginosa* 2-9 цитотоксичних і інвазивних властивостей.

В експериментах на білих лабораторних мишах встановлено, що бактерії-деструктори важкоокиснювальних органічних сполук *B. subtilis* ONU 551, *B. centrosporus* Ф14, *P. fluorescens* ONU 328, *P. maltophilia* ONU 329 та *P. ceracia* ONU 327 не володіють вірулентними властивостями. Протягом всього періоду спостереження після введення суспензії живих клітин бактерій внутрішньочеревинно всі тварини зберігали життєздатність, добре поїдали корм, змін з боку хутряного покриву не помічено. Миші були активними, фізіологічні відправлення у них не порушувалися, поведінкові реакції були звичайними. Клінічних ознак токсикозу не відмічено. Середні вірулентні дози не досягнули $LD_{50\text{в/ч}} > 2,0 \times 10^9$ кл/миш і перевищують рекомендовані порогові значення для IV-ого класу небезпеки штамів – “малонебезпечних, практично без алергенної та загальнотоксичної дії” [9].



Штам *P. aeruginosa* 2-9 – деструктор азотовмісних органічних барвників викликав загибель $75 \pm 8\%$ мишей на 14 добу експозиції, що свідчить про його вірулентність.

В результаті експериментальних досліджень встановлено залежність між показниками патогенності бактерій-деструкторів органічних сполук на клітинному та організовому рівнях – *in vitro* на культурах клітин людини Нер-2 та тварин L20B, та *in vivo* на лабораторних білих мишах.

Дані літератури свідчать про те, що для оцінки патогенних властивостей штамів бактерій-деструкторів, виробничих штамів, мікробних препаратів дослідники переважно використовують лабораторних тварин, що потребує економічних витрат на їх підтримання, харчування та інш. [6, 9, 17]. На підставі наших досліджень можемо рекомендувати використання методу культур клітин людини та тварин для первинного скринінгу патогенності бактерій-деструкторів ізольованих з різних джерел (стічних вод, ґрунту, водного середовища), а також колекційних штамів. Цей метод дозволяє у короткий термін (96 год) визначити цитотоксичність та інвазивність великої кількості штамів та відібрати серед них ті, що не володіють патогенними властивостями.

Таким чином, результати наших експериментальних досліджень свідчать про те, що штами бактерій-деструкторів органічних сполук *B. subtilis* ONU 551, *B. centrosporus* Ф14, *P. fluorescens* ONU 328, *P. maltophilia* ONU 329, *P. ceracia* ONU 327 не патогенні – не володіють інвазивними та цитотоксичними властивостями у культурі клітин людини Нер-2 і тварин L20B; та вірулентністю для ссавців – лабораторних білих мишей.

О.Г. Горшкова

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
тел.: +38(068) 278 02 05, e-mail: helen-good@ukr.net

ОЦЕНКА ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ ТЯЖЕЛООКИСЛЯЕМЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Реферат

Цель. Оценка потенциально патогенных свойств бактерий-деструкторов органических соединений на моделях культур клеток человека и животных и на белых мышах. **Методы.** Оценку патогенных свойств по показателям инвазивности и цитотоксичности проводили *in vitro* на культуре клеток человека Нер-2 и животных L20B, а также *in vivo* на лабораторных животных белых мышах. **Результаты.** Экспериментально подтверждено, что на протяжении 96 часов наблюдений бактерии-деструкторы не вызвали морфологических изменений и деструкцию монослоя перевиваемых культур клеток человека Нер-2 и мыши L20B. Бактерии не проникали в цитоплазму и не инфицировали клетки, что свидетельствовало об отсутствии у них инвазивных и цитотоксических свойств. У лабораторных белых мышей клинических признаков токсикоза и гибели животных не отмечалось. На протяжении всего периода наблюдений все животные сохра-



няли жизнеспособность, хорошо употребляли корм, изменений со стороны шерстяного покрова не отмечено. **Вывод.** Результаты исследований свидетельствуют о том, что штаммы бактерий-деструкторов *Bacillus subtilis* ONU 551, *Brevibacillus centrosporus* Ф14, *Pseudomonas fluorescens* ONU 328, *Pseudomonas maltophilia* ONU 329, *Pseudomonas cepacia* ONU 327 не обладают инвазивными и цитотоксическими свойствами в культуре клеток человека Hep-2 и животных L20B, а также вирулентностью для млекопитающих – лабораторных белых мышей.

Ключевые слова: бактерии-деструкторы, патогенность, инвазивные и цитотоксические свойства, культуры клеток человека и животных, лабораторные животные.

O.G. Gorshkova

Odesa National I. I. Mechnykov University,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +38(068) 278 02 05, e-mail: helen-good@ukr.net

ASSESSMENT OF PATHOGENIC PROPERTIES OF BACTERIA-DESTRUCTORS OF HEAVY- OXIDIZED ORGANIC COMPOUNDS

Summary

Aim. Assessment of potentially pathogenic properties of bacteria-destructors of organic compounds on the model of cell cultures of human and animal and on white mice. **Methods.** Evaluation of pathogenic properties by indicators of invasiveness and cytotoxicity was carried out in vitro in a culture of human cells Hep-2 and animals L20B, as well as in vivo on laboratory animals of white mice. **Results.** Experimentally confirmed that for 96 hours observation bacteria-destructors did not cause morphological changes and the destruction of the monolayer transplantable human cell cultures Hep-2 and mouse L20B. The bacteria did not penetrate the cytoplasm and did not infect the cells, which indicated of their lack of invasive and cytotoxic properties. In laboratory white mice, clinical signs of toxicosis and animal death were not observed. For the whole experimental period all animals stayed viable, no eating disorders were observed, no changes on the side of wool cover. **Conclusion.** The obtaining results showed that strains of bacteria-destructors *Bacillus subtilis* ONU 551, *Brevibacillus centrosporus* Ф14, *Pseudomonas fluorescens* ONU 328 and *Pseudomonas maltophilia* ONU 329, *Pseudomonas cepacia* ONU 327 did not have invasive and cytotoxic properties in the cell culture Hep-2 and L20B; and was not pathogenic for mammals – laboratory white mouse.

Key words: bacteria-destructors, pathogenicity, invasive and cytotoxic properties, human and animal cell cultures, laboratory animals.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баландина А.Г., Хангильдин Р.И., Ибрагимов И.Г., Мартяшева В.А. Анализ воздействия предприятий нефтехимического комплекса на гидросферу и пути минимизации их негативного влияния // Башкирский химический журнал. – 2015. – Т. 22, № 1. – С. 115–126.
2. Дмитруха Н.Н. Культура клеток как *in vitro* модель в токсикологических исследованиях // MedixAnti-Aging. – 2013. – № 3. (33) – С. 50–55.
3. Гудзенко Т.В., Волювач О.В., Беляева Т.О., Пузирьова І.В., Лісютін Г.В., Горшкова О.Г., Іваниця В.О. Нафтоокиснювальна активність деяких штамів бактерій роду *Pseudomonas* // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013. – № 4.. – С. 72–80.
4. Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Філіпова Т.О., Галкин Б.М., Іваниця Т.В., Горшкова О.Г., Чанішвілі Н. Оцінка цитотоксичних властивостей бактеріофага *Clostridium perfringens in vitro* на моделі перещеплюваної культури клітин людини НЕР-2 // Мікробіологія і біотехнологія. – 2008. – С. 31–36.
5. Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Джахуди А.Г. Изучение патогенных свойств скользящих бактерий на модели культуры клеток мантии мидий // Микробиологический журнал. – 1992. – Т. 54. – № 5. – С. 17–21.
6. Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Ширококов В.П. Практична мікробіологія. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – С. 100–111.
7. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2001. – 260 с.
8. Маркина О.В., Алексеева Л.П., Монахова Е.В. Культуры клеток в изучении биологической активности токсинов *Vibrio cholerae*, продуцируемых рекомбинантными штаммами *Escherichia coli* // Пробл. комиссия «Холера и патогенные для человека вибрионы». – 2006. – № 19. – С. 91–93.
9. Наказ МОЗ України від 26 жовтня 2004 року N 521 «Про затвердження методичних вказівок "Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсиколого-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів"».
10. Павленко М.І., Сорока Я.М., Гвоздяк П.І., Кухар В.П. Біодеструкція поліциклічних ароматичних вуглеводнів // Катализ и нефтехимия. – 2007. – № 15. – С. 46–62.
11. Пименова Е. В. Разработка метода оценки цитотоксичности антигенов возбудителя мелиоидоза *in vitro* на модели перевиваемых клеточных культур: Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук 03.02.03 – микробиология. – Волгоград, 2016. – 115 с.
12. Серебренникова М.К. Биодеградация нефтяных углеводородов иммобилизованными родококками в колоночном биореакторе: Дисс. Канд. биол. наук. – Пермь, 2014. – 159 с.
13. Сопрунова О.Б., Утепешева А.А., Виет Тиен Нгуен Микроорганизмы – деструкторы ПАВ в водных средах// Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2013. – № 1. – С. 83–90.
14. Bergé A., Cladière M., Gasperi J., Coursimault A., Tassin B., Moiller-



on R. Meta-analysis of environmental contamination by alkylphenols (Review) // *Envir. Sci. Pollut. Res.* – 2012. – Vol. 19, № 9. – P. 3798–3819.

15. *Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja, Olga Woljuwacz, Boris Galkin, Olga Zuk, Elena Gorszkowa.* Biodegradacja fenoli i nnych cyklicznych związków aromatycznych. – Publisher: GlobeEdit is a trademark of International Book Market Service Ltd., member of OmniScriptum Publishing Group, 17 Meldrum Street, Beau Bassin 71504, Mauritius. (ISBN: 978-613-8-25347-1). – 2018. – 85 p.

16. *Harley V.S., Dance D.A.B., Drasar B.S.* Effects of *Burkholderia pseudomallei* and other *Burkholderia* species on eukaryotic cells in tissue culture// *Microbios.* – 1998. – Vol. 96. – P. 71–93.

17. *Tayabali A.F., Coleman G., Crosthwait J., Nguyen K.C., Zhang Y., Shwed P.* Composition and pathogenic potential of a microbial bioremediation product used for crude oil degradation. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0171911 February 8, 2017.

References

1. Balandina AG, Khangildin P.I., Ibragimov IG, Martiasheva VA Analysis of the impact of the petrochemical complex enterprises on the hydrosphere and ways to minimize their negative impact. *Bashkir chemical journal.* 2015; 22 (1): 115-126. [in Russian].

2. Dmitruha NN. Cell culture as an in vitro model in toxicological studies. *MedixAnti-Aging.* 2013; 3(33): 50-55. [in Russian].

3. Gudzenko TV, Voliuvach OV, Belyaeva TO, Puziriova IV, Lisutin GV, Gorshkova OG, Ivanytsya VO. Oil oxidative activity of some strains of bacteria of *Pseudomonas* genus. *Microbiology&Biotechnology.* 2013; 4 (24): 72-80. [in Ukrainian].

4. Ivanytsya VO, Gudzenko TV, Filipova TO, Galkin BM, Ivanytsya TV, Gorshkova OG, Changishvili N. Estimation of *Clostridium perfringens* bacteriophage cytotoxic properties in vitro on the human cells HEP-2 passaget culture model. *Microbiology&Biotechnology.* 2008; 2 (3):31-36. [in Ukrainian].

5. Ivanytsya VO, Gudzenko TV, Dzhanhudi AG. Study of pathogenic properties of gliding bacteria on a model of cell culture mussel mantle. *Microbiologicheskii zhurnal.* 1992; 54 (5): 17-21. [in Russian].

6. Klimnyuk SI, Sitnik IO, Tvorko MS, Shirobokov VP. *Practical Microbiology: A Handbook.* Ternopil: Ukrmedkniga, 2004: 100-111. [in Ukrainian].

7. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. *Statistical methods in medical and biological research using Excel.* K.: Morion, 2001: 260. [in Russian].

8. Markina OV, Alekseeva LP, Monakhova EV. Cell culture in the study of biological activity of *Vibrio cholerae* toxins produced by recombinant strains *Escherichia coli*. *Probl. Commission "Cholera and human pathogenic vibrions."* 2006; 19: 91-93. [in Russian].

9. Order of the Ministry of Health of Ukraine of October 26, 2004 N 521 "About the approval of methodical instructions" Medical and biological research of production strains of microorganisms and toxicological and hygienic evaluation of microbial preparations, determination of their safety and substantiation of hygienic standards and regulations". [in Ukrainian].



10. Pavlenko MI, Soroka JM, Hvozdiak PI, Kuhar VP. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Kataliz i neftehimija*. 2007; 15: 46-62. [in-Ukrainian].
11. Pimenova EV. Development of a method of evaluating cytotoxicity of antigens of melioidosis agent in vitro on the model of transplantable cell cultures: The dissertation for the degree of candidate of medical sciences: 03.02.03: microbiology: Volgograd, 2016: 115. [in Russian].
12. Serebrennikova MK. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by immobilized rhodococci in a column bioreactor: Diss. Cand. biol. sciences: Perm, 2014:159.[in Russian].
13. Soprunova OB, Utepesheva AA, Viet Tien Nguyen. Microorganisms - surfactant destructors in water media. *Journal of Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries*. 2013; 1: 83-90. [in Russian].
14. Bergé A, Cladière M, Gasperi J, Coursimault A, Tassin B, Moilleron R. Meta-analysis of environmental contamination by alkylphenols (Review). *Envir. Sci. Pollut. Res.* 2012; 19(9): 3798-3819. [in English].
15. Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja, Olga Woljuwacz, Boris Galkin, Olga Zuk, Elena Gorszkowa. Biodegradacja fenoli i innych cyklicznych związków aromatycznych. – Publisher: Globe Editisatra de markof International Book-Market Service Ltd., member of Omni Scriptum Publishing Group, 17 Meldrum Street, Beau Bassin 71504, Mauritius. (ISBN: 978-613-8-25347-1): 85. [in Polish]
17. Tayabali AF, Coleman G, Crosthwait J, Nguyen KC, Zhang Y, Shwed P. Composition and pathogenic potential of a microbial bioremediation product used for crude oil degradation. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0171911 February 8, 2017.

Стаття надійшла до редакції 17.04.2020 р.

