

IMMUNOMODULATORY AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF PREPARATIONS ON THE BASIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE PROTEIN FRAGMENTS OF COLOSTRUM

I. Lych, A. Motsar, K. Soloshenko
National University of Food Technologies

Key words:

Bovine colostrum
Immunity
Protein fragments
Phagocytosis
Immunomodulatory properties
Antibacterial properties

Article history:

Received 06.05.2019
Received in revised form
28.05.2019
Accepted 19.06.2019

Corresponding author:

I. Lych
E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

This paper explores the functional activity of phagocytic cells in models of phagocytes under the influence of the drug on the basis of biologically active protein fragments of colostrum of cows. Such indicators as the percentage of phagocytes PP (percentage of cells captured bacterial cells) and phagocytes number FN (average number of particles that absorbed phagocytes one cell) were defined. Antibacterial properties of colostrum of cows set the minimum inhibitory concentration of the drug based on biologically active protein fragments of colostrum of cows with different protein concentration and minimum inhibitory concentration of the drug based on biologically active protein fragments of colostrum of cows in combination with nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) used for the management of mild to moderate pain, fever, and inflammation — ibuprofen.

Determination of antibacterial properties of bioactive colostrum protein fragments was performed in terms of the minimum inhibitory concentration (MIC) using the method of gradual serial twofold dilutions in liquid medium. Research of immunomodulatory properties of the mixture of bioactive colostrum protein fragments was performed under conditions in vitro, using phagocytes blood of healthy rats.

The research of biologically active protein components of cow colostrum makes it possible to examine the role of non-specific immune colostrum antibacterial protection body and create products based on their functional purpose, that can stimulate the development of own immune system of the newborn, to protect his body from invading pathogenic agents and to protect various food allergies.

ІМУНОМОДУЛЮВАЛЬНІ ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ БІЛКОВИХ ФРАГМЕНТІВ МОЛОЗИВА

І. В. Лич, А. В. Моцар, К. І. Солошенко

Національний університет харчових технологій

У статті досліджено функціональну активність фагоцитарних клітин на моделі фагоцитів під впливом препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива корів. Визначено такі показники, як відсоток фагоцитозу ВФ (відсоток клітин, які захопили бактеріальні клітини) та фагоцитарне число ФЧ (середня кількість частинок, яку поглинула одна фагоцитувальна клітина). Крім цього, описано антибактеріальні властивості молозива корів, встановлено мінімальні інгібуючі концентрації препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива корів різної концентрації білків та мінімальні інгібуючі концентрації препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива корів у комбінації з лікарською речовиною.

Визначення антибактеріальних властивостей біологічно-активних білкових фрагментів молозива відбувалося за показником мінімально інгібувальної концентрації (МІК) на основі методу серійних поступових двократних розведень у рідкому середовищі. Дослідження імуномодулюючих властивостей суміші біологічно активних білкових фрагментів молозива проводилось в умовах *in vitro* з використанням фагоцитів крові здорових щурів.

Дослідження біологічно-активних білкових компонентів коров'ячого молозива дає змогу детально вивчити роль молозива у неспецифічному імунному антибактеріальному захисті організму та створити на їх основі продукти функціонального призначення, що здатні стимулювати розвиток власної імунної системи новонародженого, захищати його організм від вторгнення хвороботворних агентів і від різних харчових алергій.

Ключові слова: коров'яче молозиво, імунітет, білкові фрагменти, фагоцитоз, імуномодулювальні властивості, антибактеріальні властивості.

Постановка проблеми. Впродовж 200 млн років лактація була й залишається основою успішного вигодовування потомства у ссавців. Адже саме в материнському молоці найкраще збалансований вміст поживних речовин, ферментів, гормонів, факторів імунітету та інших компонентів, які сприяють пристосуванню немовляти до умов позаутробного існування, до впливу численних, у тому числі й шкідливих факторів навколишнього середовища [1].

Сучасна клінічна медицина володіє переконливими фактами щодо переваг не тільки грудного вигодовування, а й використання сумішей з додаванням сухого коров'ячого молозива для штучного вигодовування, оскільки саме воно вважається перспективним продуктом поліфункціонального складу, що проявляє яскраво виражені антибактеріальні, протизапальні, імунопротекторні та імуномодулювальні властивості, володіє регенераційною дією.

Біологічно активні фрагменти молозива корів можуть використовуватися у складі молочних сумішей для вигодовування немовлят [2; 3]. Адже новона-

роджені піддаються впливу великої кількості мікроорганізмів, чужорідних білків і хімічних речовин. Тому молозиво особливо пристосоване до потреб новонародженого з усіх точок зору. Його високий рівень імунокомпетентних факторів захищає дитину в період переходу від внутрішньоутробного життя до автономного в умовах зовнішнього середовища та сприяє розвитку його власного вродженого і адаптивного імунітету.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Молозиво — це єдиний продукт, у складі якого в оптимальних пропорціях є декілька груп потужних біологічно активних речовин. Як показали численні дослідження вчених [4; 5], молозиво — багатокомпонентна, поліфункціональна субстанція, яка володіє високою поживною і біологічною цінністю та об'єднує в собі фактори специфічного й неспецифічного імунного захисту. Воно містить високу кількість легкозасвоюваних сироваткових білків, захисних імунних факторів (імуноглобулін А, лактоферин, лізоцим, лейкоцити-макрофаги, нейтрофіли, лімфоцити), а також природних антиоксидантів (вітамінів А і Е, β-каротину, цинку, селену). Ці унікальні речовини відіграють важливу роль у становленні імунітету, забезпечуючи динамічне диференціювання та формування набутого імунного захисту [6]. А тому, з переходом на штучне вигодовування дитячими сумішами, що містять коров'яче молозиво, дитина буде мати можливість отримувати, крім високока-лорійної їжі, ще й цілий арсенал захисних факторів для підтримання імунітету та забезпечення антибактеріального захисту [2].

Слід зазначити, що антибактеріальні властивості молозива насамперед залежать від наявності в його складі каталітичних антитіл білків-абзимів — штучно створених конструкцій моноклональних антитіл, гіперваріабельні ділянки яких містять амінокислотні залишки, що безпосередньо беруть участь у біокаталітичних реакціях. Каталітична активність цих абзимів спрямована на гідроліз чужорідних та аутологічних антигенів. Проте останнім часом значну увагу науковців привертає те, що дія каталітичних імуноглобулінів багато в чому пов'язана не тільки з типом реакцій, яку необхідно каталізувати, а й з усіма імунними реакціями організму [6; 7].

На сьогодні з'ясовано [8; 9], що білки-абзими, IgG та sIgA за допомогою Fab фрагментів здатні не лише зв'язуватися з патогенними мікроорганізмами та вірусами, а й гідролізувати їх ДНК та РНК. Крім цього, доведено, що імуноглобуліни класу G володіють протеолітичною активністю: здатні з високою ефективністю гідролізувати інтегразу ВІЛ, що може вбудовувати вірусну ДНК в ДНК клітини-мішені.

Також відомо [10], що передача клітин імунної системи (нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів, тканинних макрофагів) здійснюється саме за допомогою молозива, на 1 мл якого припадає кілька мільйонів живих клітин, головним чином лейкоцитів і секреторних епітеліальних клітин, які відіграватимуть важливу роль у захисті дитини.

Отже, фагоцитувальним клітинам та антибактеріальним агентам належить головна роль у захисті організму хазяїна від різних інфекційних агентів. Здатність поліморфоядерних лейкоцитів і моноклеарних клітин до фагоцитозу — перетравлення різних мікробів, що потрапляють до організму, є захисною

функцією організму [11]. А неспецифічна активність молозива завдяки лізоциму, лактоферину, ксантинооксидазі та іншим антибактеріальним агентам призводить до зниження кількості патогенних мікроорганізмів і стимулює розвиток біфідобактерій, які запобігають розвитку гнильної мікрофлори, що загалом сприяє підвищенню природної резистентності новонароджених [12].

Мета статті: дослідити функціональну активність фагоцитарних клітин на моделі фагоцитів та антибактеріальну дію під впливом препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива корів, вивчити проти-мікробні та імуномодулювальні властивості компонентів коров'ячого молозива, які відіграють важливу роль у становленні та підтриманні імунітету новонароджених дітей, у поєднанні з лікарськими засобами.

Матеріали і методи дослідження. *I етап.* Дослідження функціональної активності фагоцитарних клітин на моделі фагоцитів крові щурів під впливом біологічно активних білкових фрагментів молозива корів. Схема дослідження наведена на рис. 1.

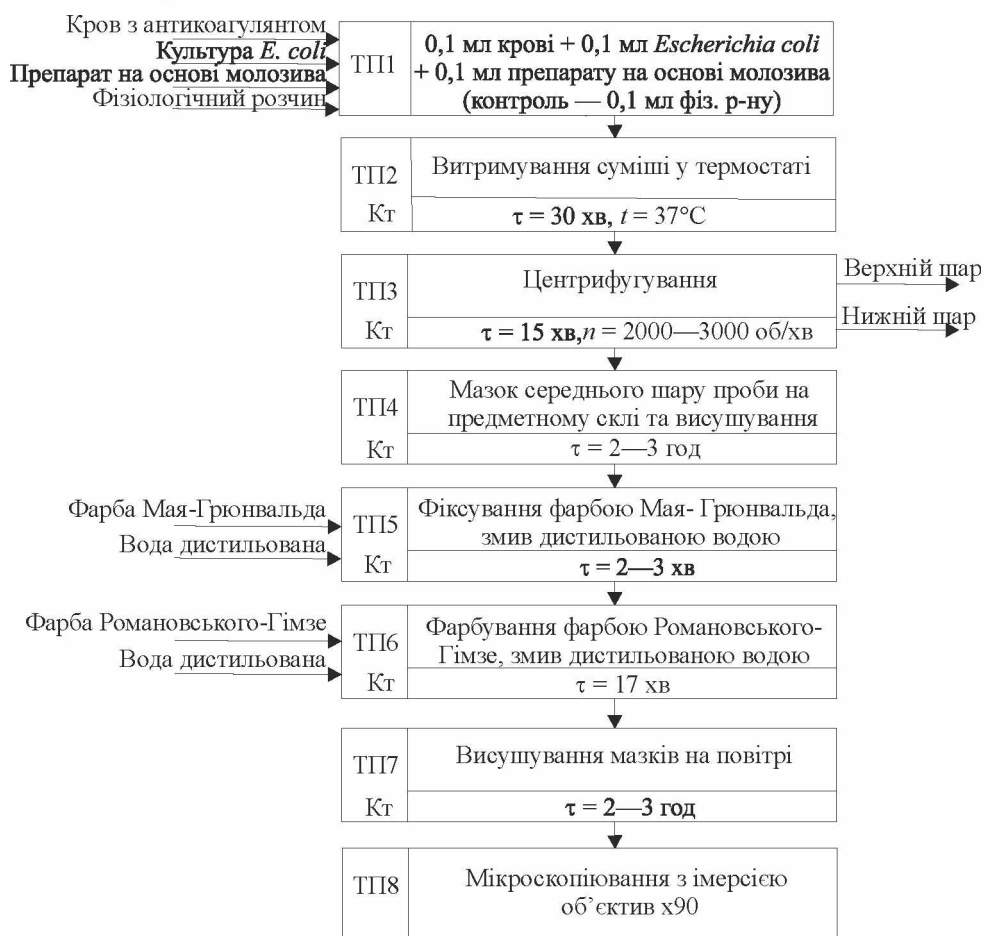


Рис. 1. Схема дослідження функціональної активності фагоцитарних клітин на моделі фагоцитів під впливом біологічно активних білкових фрагментів молозива корів

Облік отриманих результатів проводили під мікроскопом Біолам Р11 («Ломо», Росія) з використанням імерсійного об'єктиву $\times 90$, окуляру $\times 15$ і визначали два показники: відсоток фагоцитозу ВФ, тобто відсоток фагоцитувальних клітин, які поглинули мікробні частки та фагоцитарне число ФЧ — середню кількість часток, що поглинула одна фагоцитувальна клітина. Обрахунки вели за формулами, що наведені нижче:

$$\text{ВФ} = \frac{\text{к-ть клітин з бактеріями}}{\text{загальна к-сть клітин}} \cdot 100\% ; \quad (1)$$

$$\text{ФЧ} = \frac{a \cdot 5 + b \cdot 10 + c \cdot 15}{\text{ВФ}}, \text{ у.о.}, \quad (2)$$

де a — кількість клітин, які поглинули 5—9 бактеріальних клітин; b — кількість клітин, які містять 10—14 бактеріальних клітин; c — кількість клітин, в яких бактеріальних клітин 15 і більше.

II етап. Дослідження антибактеріальних властивостей препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива корів у комбінації з лікарськими засобами.

Дослідження проводили за показником мінімально інгібувальної концентрації (МІК), використовуючи метод серійних поступових двократних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ). Як бактеріальні тест-культури використовували *Escherichia coli* ІЕМ-1 та *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Acinetobacter sp.* ІМВ В-7005, *Enterobacter cloacae*. Дослідження проводились за додавання лікарського препарату — ібупрофен.

Методика виконання даного дослідження зображена на рис. 2.

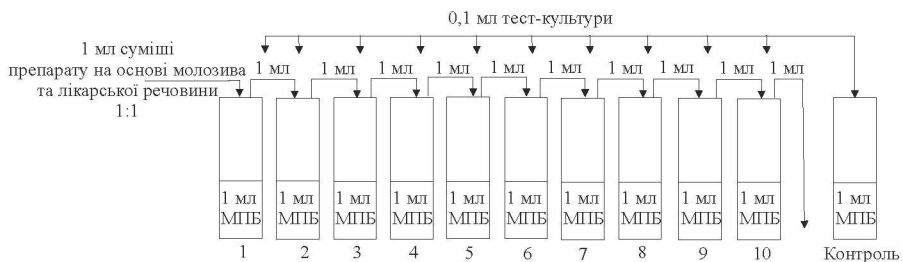


Рис 2. Методика визначення мінімально інгібувальної концентрації комбінованого препарату

Результати оцінювали візуально за помутнінням середовища: (+) — пробірки, де спостерігалось помутніння середовища; (–) — помутніння було відсутнє.

Викладення основних результатів дослідження. На рис. 3 представлені дані щодо впливу суміші біологічно активних білкових фрагментів молозива концентрацією 0,01 г/мл на показники фагоцитозу, виражені в зміні величин відсотка фагоцитозу та фагоцитарного числа (рис. 3б).

Як видно з рис. 3а, після оброблення фагоцитувальних клітин розчином біологічно активних білкових фрагментів молозива в концентрації 0,01 г/мл проби 1, величина показника ВФ на 31,5% перевищує значення ВФ контрольних зразків та складає 93,5% проти 62%. При обробленні клітин препаратом

проби 2 величина показника ВФ збільшується на 30,75% порівняно з контролем та складає 92,75% проти 62%. Величина ВФ проби 3 на 26,8% перевищує значення ВФ контрольних зразків та складає 88,8% проти 62%. Проба 4 — величина показника ВФ на 18,25% перевищує значення ВФ контрольних зразків і складає 80,25% проти 62%.

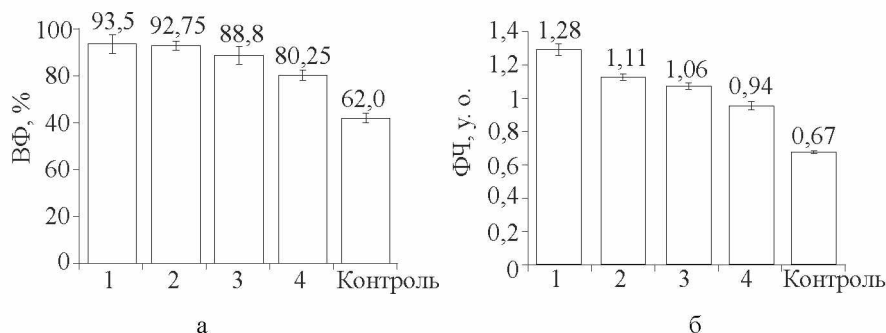


Рис. 3. Вплив біологічно активних білкових фрагментів молозива С= 0,01 г/мл на показники фагоцитозу

Примітка*: Проба 1 — зразок відібраний через 2 год після отелення.

Проба 2 — зразок відібраний через 12 год після отелення.

Проба 3 — зразок відібраний через 24 год після отелення.

Проба 4 — зразок відібраний через 36 год після отелення.

Наступним показником, який характеризує поглинальну здатність фагоцитів, є фагоцитарне число ФЧ. На рис. 3б видно, що цей показник теж мав ідентичну закономірність перевищувати значення контрольних зразків. Величина показника ФЧ під впливом препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів концентрацією 0,01 г/мл проби 1, на 0,61 у. о. (47,6%) перевищує значення ФЧ контрольних зразків та складає 1,28 у. о. проти 0,67 у. о., препарат проби 2 демонструє збільшення величини показника ФЧ на 0,44 у. о. (40%), порівняно з контрольними зразками та складає 1,11 у.о проти 0,67 у. о. Препарат проби 4 — на 0,39 у. о. (35,8%) перевищує значення ФЧ контрольних зразків та складає 1,06 у. о. проти 0,67 у. о. та препарат проби 4 на 0,27 у. о. (28,7%) перевищує значення ФЧ контрольних зразків і складає 0,94 у. о. проти 0,67 у. о.

Аналізуючи вищезазначене, слід зазначити, що досліджуваний препарат на основі біологічно активних фрагментів молозива концентрацією 0,01 г/мл мав виразний вплив на величину ВФ та ФЧ порівняно з контролем. Крім цього, значення досліджених показників істотно залежить від моменту відбору проби. Тому найвищу поглинальну здатність фагоцитів демонструє препарат проби 1 (зразок відібраний через 2 год після отелення), показники ВФ якого складають 93,5% проти 62%, та показники ФЧ — 1,28 у. о. проти 0,67 у. о.

Другим етапом нашої роботи було дослідження поглинальної здатності фагоцитів під впливом препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива в концентрації 0,1 г/мл. Результати зміни функціональної активності фагоцитів після взаємодії з досліджуваним препаратом наведені на рис. 4.

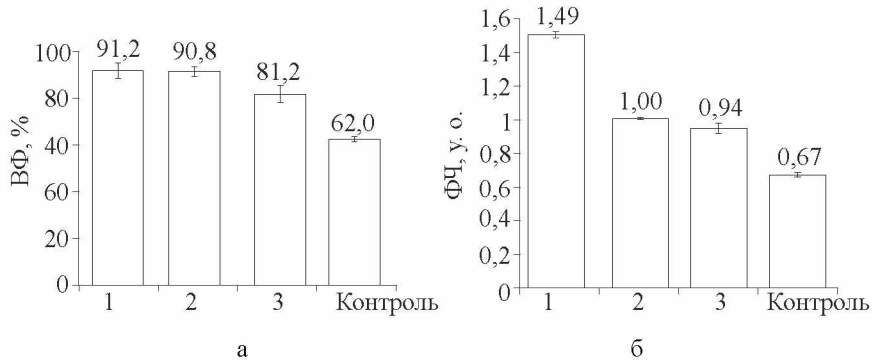


Рис. 4. Вплив біологічно активних білкових фрагментів молозива $C = 0,1$ г/мл на показники фагоцитозу

Примітка*: Проба 1 — зразок відібраний через 2 год після отелення.

Проба 2 — зразок відібраний через 12 год після отелення.

Проба 3 — зразок відібраний через 24 год після отелення.

Проба 4 — зразок відібраний через 36 год після отелення.

Після оброблення клітин препаратом на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива корів концентрацією 0,1 г/мл проби 1 величина показника ВФ на 29,2% перевищує значення ВФ контрольних зразків та складає 91,2% проти 62%. При обробленні клітин препаратом проби 2 величина показника ВФ на 28,8% перевищує значення ВФ контрольних зразків і складає 90,8% проти 62%. Також величина показника ВФ проби 3 на 19,2% перевищує значення ВФ контрольних зразків та складає 81,2% проти 62% (рис. 4а).

Дані, наведені на рис. 4б, свідчать, що величина показника ФЧ під впливом препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива в концентрації 0,1 г/мл проби 1 на 0,82 у. о. (55%) перевищує значення ФЧ контрольних зразків та складає 1,49 у. о. проти 0,67 у. о. Препарат проби 2 демонструє збільшення величини показника ФЧ на 0,33 у. о. (33%) порівняно з контрольними зразками та складає 1,00 у. о. проти 0,67 у. о. Препарат проби 3 — на 0,27 у. о. (28,7%) перевищує значення ФЧ контрольних зразків та складає 0,94 у. о. проти 0,67 у. о.

Отже, дослідження поглинальної здатності фагоцитів під впливом препарату на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива концентрацією 0,1 г/мл підтвердило, що препарат має виразний стимулювальний вплив на функціональну активність фагоцитів та істотно залежить від моменту відбору проби. Слід відзначити, що найвищу поглинальну здатність фагоцитів демонструє препарат на основі біологічно активних білкових фрагментів молозива в концентрації 0,01 г/мл проби 1, показники ВФ якого складають 93,5% проти 62%, та показники ФЧ — 1,28 у. о. проти 0,67 у. о., що дає можливість використовувати препарат у подальших дослідженнях.

Заключним етапом нашої роботи було визначення антибактеріальних властивостей біологічно активних білкових фрагментів молозива корів як окремо, так і в суміші з лікарським препаратом ібупрофен, який на сьогодні є одним з найбільш широко вживаним лікарським засобом із знеболювальною,

жарознижувальною, протизапальною дією та, крім цього, вважається нетоксичним для дитячого організму [13].

Узагальнені результати дослідження мінімальної інгібувальної концентрації препарату на основі біологічно активних білкових пептидів молозива корів і комбінованого препарату на основі ібупрофену та біологічно активних білкових пептидів молозива корів наведені в табл. 1.

Таблиця 1. Антибактеріальні властивості досліджуваних препаратів

Проба	Мікроорганізми	МІК		
		Молозиво	Ібупрофен	Комбінований препарат (молозиво+ібупрофен)
Проба 1 C = 10 мг/мл	<i>E. coli</i> IEM-1	160	195	140
	<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	160	48	70
	<i>Enterobacter cloacae</i>	160	97	70
	<i>Acinetobacter sp.</i> ІМВ В-7005	310	24	70
Проба 2 C = 10 мг/мл	<i>E. coli</i> IEM-1	310	195	140
	<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	160	48	70
	<i>Enterobacter cloacae</i>	310	97	140
	<i>Acinetobacter sp.</i> ІМВ В-7005	310	24	140
Проба 1 C = 100 мг/мл	<i>E. coli</i> IEM-1	78	195	140
	<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	78	48	70
	<i>Enterobacter cloacae</i>	160	97	70
	<i>Acinetobacter sp.</i> ІМВ В-7005	78	24	35
Проба 2 C = 100 мг/мл	<i>E. coli</i> IEM-1	310	195	140
	<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	310	48	140
	<i>Enterobacter cloacae</i>	310	97	140
	<i>Acinetobacter sp.</i> ІМВ В-7005	160	24	70

Примітка*: Проба 1 — зразок відібраний через 2 год після отелення.

Проба 2 — зразок відібраний через 12 год після отелення.

Проба 3 — зразок відібраний через 24 год після отелення.

Проба 4 — зразок відібраний через 36 год після отелення.

У результаті дослідження встановлено, що МІК препарату на основі біологічно активних білкових пептидів молозива корів концентрацією 10 мг/мл, щодо *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Enterobacter cloacae* та *E. coli* IEM-1 становить 160 мкг/мл, а щодо *Acinetobacter sp.*ІМВ В-7005 та інгібування відбувається гірше, показник МІК для яких становить 310 мкг/мл.

У результаті застосування комбінованого препарату на основі біологічно активних білкових пептидів молозива корів концентрацією 10 мг/мл проби 1 та ібупрофену показник МІК щодо *E. coli* IEM-1 становив 140 мкг/мл. Однак найкраще інгібування під впливом комбінованого препарату спостерігалось щодо *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Acinetobacter sp.* ІМВ В-7005, *Enterobacter cloacae*, показник МІК для яких був однаковим і становив 70 мкг/мл.

Також було встановлено, що МІК препарату на основі біологічно активних білкових пептидів молозива корів концентрацією 10 мг/мл проби 2 щодо *Enterobacter cloacae*, *E. coli* IEM-1 та *Acinetobacter sp.* ІМВ В-7005 становить

310 мкг/мл. Найбільшу інгібувальну активність цей препарат проявляв щодо *Staphylococcus aureus* БМС-1, МІК при цьому становить 160 мкг/мл.

У результаті комбінування ібупрофену з препаратом на основі біологічно активних білкових пептидів молозива корів концентрацією 10 мг/мл проби 2 найкраще відбувається інгібування щодо *Staphylococcus aureus* БМС-1, яке становить 70 мкг/мл. При цьому інгібування щодо *E. coli* ІЕМ-1 та *Enterobacter cloacae* та *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 становить 140 мкг/мл.

Наступний етап роботи полягав у дослідженні показника МІК препарату на основі біологічно активних білкових пептидів молозива корів концентрацією 100 мг/мл проби 1. Результати дослідження показали, що інгібування *Staphylococcus aureus* БМС-1, *E. coli* ІЕМ-1, *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 відбувається однаково, показник МІК при цьому становить 78 мкг/мл. А при обробленні цим препаратом тест культури *Enterobacter cloacae* спостерігалось погіршення інгібування, в результаті чого показник МІК становить 160 мкг/мл.

У результаті застосування комбінованого препарату на основі біологічно активних фрагментів молозива проби 1 концентрацією 100 мг/мл та ібупрофену показник МІК щодо *E. coli* ІЕМ-1 становить 140 мкг/мл щодо *Enterobacter cloacae* та *Staphylococcus aureus* БМС-1 — 70 мкг/мл. Проте найкраще інгібування під впливом комбінованого препарату спостерігалось щодо *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005, показник МІК для якого складає 35 мкг/мл.

Паралельно було досліджено показник МІК препарату на основі біологічно активних білкових пептидів молозива корів концентрацією 100 мг/мл проби 2. Результати дослідження показали, що інгібування *Staphylococcus aureus* БМС-1, *E. coli* ІЕМ-1, *Enterobacter cloacae* відбувається однаково, показник МІК при цьому становить 310 мкг/мл. При обробленні цим препаратом тест культури *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 спостерігалось покращення інгібування, в результаті чого показник МІК становить 160 мкг/мл.

Під час застосування комбінованого препарату на основі біологічно активних фрагментів молозива проби 2 та ібупрофену показник МІК щодо *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* БМС-1 та *E. coli* ІЕМ-1 становить 140 мкг/мл. Проте найкраще інгібування під впливом комбінованого препарату на основі ібупрофену та біологічно активних білкових пептидів молозива корів концентрацією 100 мг/мл проби 2 спостерігалось щодо *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005, показник МІК для якого складає 70 мкг/мл.

Враховуючи отримані результати, можна зробити висновок, що застосування комбінованого препарату на основі біологічно активних фрагментів молозива та ібупрофену істотно впливає на показник МІК. Найкраще інгібування спостерігалось під впливом комбінованого препарату на основі ібупрофену та біологічно активних фрагментів молозива корів концентрацією 100 мг/мл проби 1 на бактеріальні тест-культури *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005, показник МІК при цьому становить 35 мкг/мл.

Тож проведене дослідження підтверджує значний інгібувальний вплив біологічно активних білкових пептидів молозива корів на бактеріальні культури в комплексі з лікарською речовиною ібупрофен, що призводить до пригнічення їх росту та розвитку в умовах *in vitro*. Крім цього, отримані результати

надають можливість зменшити терапевтичну дозу, прояви побічних реакцій ібупрофену та шкідливий хімічний вплив лікарської речовини на організм.

Висновки

Отже, фактично молозиво являє собою гіперімунний розчин та є природним доповненням раціону з широким діапазоном потенційно позитивного впливу на організм. Вживання молозива сприяє підвищенню стійкості до застудних захворювань, підтримці та активації імунної відповіді, зниженню рівня гіперчутливості, асоційованої з алергією та автоімунними розладами.

Проведене дослідження підтверджує перспективність для подальшого вивчення взаємодії біологічно активних пептидів з макроорганізмом в умовах *in vivo*, створення протимікробних і профілактичних білкових препаратів природного походження на основі молозива, до яких не має резистентності, які не викликать алергічних і побічних реакцій.

Література

1. Фурцев В. И. Грудное вскармливание: состав и свойства грудного молока. *Сибирское медицинское обозрение*. 2012. № 2. С. 91—95.
2. Бородина О. О., Лич І. В. Молозиво — основа для розробки імунного харчування. *Біотехнологія: досвід, традиції та інновації*: збірник матеріалів І міжнародної науково-практичної інтернет-конференції. 2016. С. 86—91.
3. Лич І. В., Карпов О. В., Пекло Г. О., Пекло А. О. Імунологічні властивості молозива. *Харчова промисловість*. 2014. № 16. С. 28—32.
4. Боровик Т. Э., Семенова Н. Н., Лукоянова О. Л. и др. К вопросу о возможности использования молока и адаптированных смесей на его основе в детском питании. *Вопросы современной педиатрии*. 2013. Т. 8.— С. 8—16.
5. Самбуров Н. В., Палаус І. Л. Молозиво коров его состав и биологические свойства. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2014. № 4. С. 59—61.
6. Романенко Г. О. Імунітет новонароджених дітей. *Медицинський журнал*. 2012. № 13. С. 15—19.
7. Гуменний В. Д., Гумен В. В., Ємець О. Ю. и др. Молозиво — рідке золото. *Науково-технічний бюлетень ІТ НААН*. 2015. № 114. С. 47—57.
8. Боровия Т. Э., Яцык Г. В, Намазова-Баранова Л. С. и др. Возможности использования лактоферрина человека в педиатрической практике. *Вопросы современной педиатрии*. 2014. Т.13. № 4. С. 12—19.
9. Зажарська Н. М., Самойленко Ю. В. Хімічні та імунологічні показники козиного молозива і молока залежно від періоду лактації. *Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету*. 2016. № 2. С. 70—75.
10. Powar Priyatama V. Immunological aspect of colostrum as a preventative medication. *JIPBS*. 2015. Vol. 2. No. 3. P. 252—260.
11. Siddhi Bagwe, Leo J.P. Tharappel, Ginpreet Kaur and Harpal S. Buttar Bovine colostrum: an emerging nutraceutical. *J Complement Integr Med*. 2015. Vol. 12. No. 3. P. 1—11.
12. Inui T., Kubo K., Kuchiike D., Uto Y., Nishikata T., Sakamoto N., Mette M. Oral colostrum macrophage-activating factor for serious infection and chronic fatigue syndrome: three case reports. *Anticancer Res*. 2015. Vol. 35. No. 8. P. 4545—4549.
13. Марушко Ю. В., Гарбар І. І. Безпека застосування ібупрофену в педіатричній практиці. *Український медичний часопис*. 2014. № 4. С. 55—58.