

УДК 619:615.9.-37:636:611.018.1:

**ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ
РОСТОВЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД
ДО И ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК
ПРИ РАЗРАБОТКЕ ВЕТПРЕПАРАТОВ
НА ОСНОВЕ ПРОДУКТОВ ИХ МЕТАБОЛИЗМА**

**Д. С. Борисовец¹, Т. А. Зуйкевич¹, Н. И. Костюк¹,
И. И. Стрельчяня¹, П. А. Красочко²**

¹ – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
им. С. Н. Вышелеского»

г. Минск, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 220003, г. Минск, ул. Брикета 28

e-mail: bievmtut.by)

² – УО «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»

г. Витебск, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 210026, г. Витебск, ул. 1-я Доватора 7/11

e-mail: vsavm@gmail.com)

***Ключевые слова:** острая токсичность, питательные среды, культуры
клеток, продукты метаболизма, ветеринарные препараты.*

***Аннотация.** В статье приведены результаты изучения острой токсичности ростовых питательных сред до и после культивирования перевиваемых культур клеток. Полученные при токсикологическом исследовании результаты свидетельствуют о том, что ростовые питательные среды перевиваемых культур клеток характеризуется низкой токсичностью.*

**INVESTIGATION OF ACUTE TOXICITY OF THE GROWTH
CULTURE MEDIA, BEFORE AND AFTER CULTIVATION
OF CELL LINES WHILE DEVELOPING
OF VETERINARY PREPARATIONS ON THE BASIS
OF PRODUCTS OF THEIR METABOLISM**

**D. S. Barysavets¹, T. A. Zuikevich¹, N. I. Kastyuk¹, I. I. Strelchenya¹,
P. A. Krasochko²**

¹ – RUE «Institute of Experimental Veterinary Medicine
named of S.N.Vyshelesky», Minsk, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 220003, Minsk, Briket str. 28

e-mail: bievmtut.by)

² – «Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine»

Vitebsk, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 210026, Vitebsk, ul. 1-ya Dovatora 7/11
e-mail: vsavm@gmail.com)

Key words: acute toxicity, culture medium, cell cultures, metabolism products, veterinary preparations.

Summary: The article describes the results of study of growth culture media acute toxicity of the, before and after cultivation of continuous cell lines. The results obtained in toxicological study indicate that growth culture media of continuous cell lines is characterized with low toxicity.

(Поступила в редакцию 31.05.2017 г.)

Введение. Процесс культивирования монослойных культур клеток для дальнейшего их заражения вакцинным вирусом проводится до момента формирования сплошного монослоя клеток на поверхности культуральных матрасов и роллеров, после чего отработанная питательная среда сливается, заменяется на поддерживающую и утилизируется в достаточном больших объемах как отходы производства. При этом утилизируемая питательная среда, кроме продуктов метаболизма клеток, содержит в своем составе в достаточном количестве неиспользованные клетками в процессе роста и размножения заменимые и незаменимые аминокислоты, углеводы, минеральные вещества, витамины.

Это создает предпосылки для использования отработанной питательной среды, содержащей продукты метаболизма неинфицированных культур клеток, с целью создания ветеринарных препаратов, обладающих общим биотонизирующим и иммуномодулирующим действием, стимулирующих рост и развитие молодняка животных, увеличивающих общую устойчивость животных к инфекционным заболеваниям и стрессовым факторам. Поэтому разработка теоретических и практических основ использования продуктов метаболизма неинфицированных культур клеток для конструирования биостимулирующих и иммуномодулирующих препаратов для ветеринарии является весьма актуальной.

Цель работы: провести токсикологические исследования и изучить влияние ростовых питательных сред неинфицированных перевиваемых культур клеток на организм лабораторных животных.

Материал и методика исследований. Научно-исследовательская работа проводилась на базе отделов вирусных инфекций и бактериальных инфекций крупного рогатого скота РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», вивария института.

Острая токсичность ростовых питательных сред при оральном введении определялась в соответствии с методическими указаниями по

токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии [1].

В работе использовались ростовые питательные среды до и после культивирования перевиваемых культур клеток (таблица 1).

Таблица 1 – Ростовые питательные среды до и после культивирования перевиваемых культур клеток

1	Питательная среда Игла DMEM C-28	1/1	Ростовая среда к.кл. Marc-145 (Игла DMEM) 2-е сутки
2	Питательная среда Игла MEM C-9	2/1	Ростовая среда к.кл. MDBK 3-е сутки
3	Питательная среда Игла MEM+199 (чум.)	3/1	Ростовая среда к.кл. СПЭВ (Игла MEM+199 (чум.)) 7-е сутки
4	Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5	4/1	Ростовая среда к.кл. ЗКГ (ФГМС+Игла DMEM) 2-е сутки
5	Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5	5/1	Ростовая среда к.кл. ВНК 21/13 (ФГМС+Игла DMEM) 5-е сутки

На предварительном этапе изучение острой токсичности ростовых питательных сред проводили при однократном оральном введении белым мышам массой 19-21 г.

Для опытов было сформировано двадцать опытных и две контрольные группы по 5 голов в каждой. Опытные группы мышей №№ 1-5 использовались для изучения острой токсичности ростовых питательных до культивирования (доза 0,5 см³ на голову), опытные группы №№ 6-10 – до культивирования (доза 1,0 см³ на голову); опытные группы №№ 11-15 – после культивирования (доза 0,5 см³ на голову); опытные группы №№ 11-15 – после культивирования (доза 1,0 см³ на голову). Группы № 21 и 22 группа – (по пять мышей) служили в качестве контроля – животным вводили по 0,5 см³ и 1,0 см³ стерильного физиологического раствора. Препараты вводили внутривенно после 12-часовой голодной диеты.

Наблюдение за подопытными животными вели в течение 14 дней.

При наблюдении за лабораторными животными учитывали их поведение (возбуждение или угнетение), внешний вид, аппетит, жажду, степень проявления реакции на внешние раздражители. Регистрировали наличие рвоты, слюнотечения, частоты дыхания, мышечных подергиваний, тремора, судорог, парезов, параличей и др. симптомов интоксикации, а также выживаемость и падеж животных.

Безвредность ростовых питательных сред неинфицированных культур клеток определяли путем подкожного введения их белым мышам ж.м. 18-20 г. в дозе. Для этого животным подкожно вводили по 0,2 см³ каждой среды. Контрольным животным вводили по 0,2 см³ сте-

рильного физиологического раствора. Для исследования использовали по 5 голов на каждую среду. 5 мышей служили контролем.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты опытов по определению острой токсичности представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты определения острой токсичности ростовых питательных сред до и после культивирования культур клеток при оральном введении белым мышам

Питательная среда	Доза, см ³ /голову	Погибло	Выжило
Питательная среда Игла DMEM C-28 (до культивирования)	0,5	0	5
	1,0	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток Марс-145 (Игла DMEM) 2-е сутки	0,5	0	5
	1,0	0	5
Питательная среда Игла MEM C-9 (до культивирования)	0,5	0	5
	1,0	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток MDBK 3-е сутки	0,5	0	5
	1,0	0	5
Питательная среда Игла MEM+199 (до культивирования)	0,5	0	5
	1,0	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток СПЭВ (Игла MEM+199) 7-е сутки	0,5	0	5
	1,0	0	5
Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5 (до культивирования).	0,5	0	5
	1,0	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток ЗКГ (ФГМС+Игла DMEM) 2-е сутки	0,5	0	5
	1,0	0	5
Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5 (до культивирования)	0,5	0	5
	1,0	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток ВНК 21/13 (ФГМС+Игла DMEM) 5-е сутки	0,5	0	5
	1,0	0	5
Изотонический раствор натрия хлорида	0,5	0	5
	1,0	0	5

Из таблицы 2 видно, что при введении белым мышам ростовых питательных сред до и после культивирования перевиваемых клеточных линий в дозе 0,5 см³ и 1,0 см³ все лабораторные животные оставались живы.

После введения сред все мыши охотно принимали корм и воду, отклонений от физиологической нормы не отмечено.

Из этого следует, что ростовые питательные среды оказались нетоксичны, поэтому ЛД₅₀ установить не представляется возможным.

В таблице 3 приведены результаты изучения безвредности ростовых питательных сред до и после культивирования культур клеток при подкожном введении в дозе 0,2 см³.

Таблица 3 – Результаты изучения безвредности ростовых питательных сред до и после культивирования культур клеток при подкожном введении белым мышам

Питательная среда	Доза, см ³ /голову	Погибло	Выжило
Питательная среда Игла DMEM C-28 (до культивирования)	0,2	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток Marc-145 (Игла DMEM) 2-е сутки	0,2	0	5
Питательная среда Игла MEM C-9 (до культивирования)	0,2	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток MDBK 3-е сутки	0,2	0	5
Питательная среда Игла MEM+199 (до культивирования)	0,2	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток СПЭВ (Игла MEM+199) 7-е сутки	0,2	0	5
Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5 (до культивирования)	0,2	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток ЗКТ (ФГМС+Игла DMEM) 2-е сутки	0,2	0	5
Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5 (до культивирования)	0,2	0	5
Ростовая среда после культивирования культур клеток ВНК 21/13 (ФГМС+Игла DMEM) 5-е сутки	0,2	0	5
Изотонический раствор натрия хлорида	0,2	0	5

При подкожном введении мышам ростовых питательных сред до и после культивирования перевиваемых культур клеток в дозе 0,2 см³ все животные оставались живы.

После введения ростовых питательных сред в первые дни и в последующем изменений в общем состоянии и реакции на месте введения не отмечалось. В процессе наблюдения мыши охотно принимали корм и воду, отклонений от физиологической нормы не выявлено.

Таким образом, подкожное введение ростовых питательных сред показало их безвредность.

Проведение дальнейших исследований по оценке токсичности ростовых питательных сред до и после культивирования перевиваемых культур клеток нецелесообразно, т. к. в максимальных дозах они оказались нетоксичны при оральном использовании и безвредны при подкожном введении.

Заключение. Таким образом, по параметрам острой оральной токсичности ростовые питательные среды до и после культивирования перевиваемых культур клеток по классификации ГОСТ 12.1.007-76 относятся к 4 классу опасности (вещества малоопасные), что дает основание дальнейшего их использования для конструирования биологических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии: утвержденные Министерством сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 16.03.07. – Минск: РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», 2007. – 156с.

УДК 619:615.37:636.22/.28.0532:619:616.2

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АДАПТОГЕНОВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ ТЕЛЯТ

Д. С. Борисовец¹, Т. А. Зуйкевич¹, П. А. Красочко², Я. П. Яромчик²

¹ – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 220003, г. Минск, ул. Брикета 28 e-mail: bievmtut@tut.by)

² – УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 210026, г. Витебск, ул. 1-я Доватора 7/11 e-mail: vsavm@gmail.com)

Ключевые слова: крупный рогатый скот, телята, желудочно-кишечный тракт, микрофлора, бактерии, пробиотик «Лактимет», пребиотик «Глюкофарм», естественная резистентность, интенсивность роста.

Аннотация. Комплексное использование пробиотического препарата «Лактимет» и пребиотического «Глюкофарм» (лактоулозы) повышает интенсивность роста телят на 31,6%, активность лизоцима сыворотки на 24,1%, бактерицидную активность сыворотки на 36,9%, уровень лакто- и бифидобактерий на 10^2 - 10^4 КОЕ, нормализует обменные процессы.

USE OF ADAPTOGENS OF NATURAL ORIGINS IN IMPROVING OF THE TECHNOLOGY OF CALF BREEDING

D. S. Barysavets¹, T. A. Zuikevich¹, P. A. Krasochko², Y. P. Yaromchik²

¹ – RUE «Institute of Experimental Veterinary Medicine named of S.N. Vyshellessky», Minsk, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 220003, Minsk, Briket str. 28; e-mail: bievmtut@tut.by)

² – EE «Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine» Vitebsk, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 210026, Vitebsk, ul. 1-ya Dovatora 7/11 e-mail: vsavm@gmail.com)