

Литература

1. van Boven B., Bouma A., Fabri T.H.F., Katsma E., Hartog L., Koch G. Herd immunity to Newcastle disease virus in poultry by vaccination // *Avian Pathology*. – 2008. – Vol. 37. - №1. – P. 1-5.1
2. Смоленский В.И. Эффективность вакцин против вирусных болезней птиц // *Ветеринария*. – 2001. - №1. – С. 23-28.
3. Chansiripornchai N., Sasipreeyajan J. Efficacy of live B1 or Ulster 2C Newcastle disease vaccines simultaneously vaccinated with inactivated oil adjuvant vaccine for protection of Newcastle disease virus in broiler chickens // *Acta Veterinaria Scandinavica*. – 2006. – Vol. 48. - №2. – P. 2-7.

Түйін

Қазіргі кездегі вирусология ғылымының өзекті мәселелерінің бірі Ньюкасл ауруы вирусына қарсы неғұрлым қарапайым, технологиялық және сенімді вакцина егу тәсілдерін жасау болып табылады.

Бұл жұмыста 18 күндік қауырсынын жармаған тауық балапандарына ұрық ішілік вакцина егу («in ovo») мүмкіндігі зерттелген.

Иммундау кезінде вакцина мөлшері 1 мкг/ұрық болған кезде өзіндік қарсы денелер титрі 3,0 log 2-ден асатын болса, ал вакцина мөлшері 10 мкг/ұрық болған кезде өзіндік қарсы денелер титрі 7,0 log 2-ден асатындығы көрсетілді, яғни вакцина егудің осы жолының тиімділігі жоғары болатындығы көрсетілді.

Summary

Development of more simple, technological and reliable methods for vaccination against Newcastle disease virus is rather important problem of modern virology.

In the present research the possibility of "in ovo" vaccination in 18-day's chicken embryos was investigated.

It was shown that "in ovo" immunization in dose 1 µg/embryo provided high titers of specific antibody up to 3,0 log₂ and same immunization in dose 10 µg/embryo induced antibody titers more than 7,0 log₂. The results have shown high efficacy of "in ovo" immunization method for vaccination against Newcastle disease virus.

УДК 575.224.6:577.24

Ахметова С.Б.¹, Сейдахметова Р.Б.¹, Шульгау З.Т.¹, Джантасова А.Д.²,
Бекмолдина Б.К.³, Аринова Б.³

ТЕСТИРОВАНИЕ НА КАНЦЕРОГЕННОСТЬ ЭФИРНОГО МАСЛА АЯНИИ КУСТАРНИЧКОВОЙ НАБОРОМ КРАТКОСРОЧНЫХ ТЕСТОВ

¹Акционерное общество «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»,

²Карагандинский государственный медицинский университет,

³КО ЦСЭЭ Бактериологическая лаборатория, г.Караганда, Казахстан

Краткосрочное тестирование на канцерогенность следует применять в системе доклинического изучения безопасности оригинальных фармакологических средств. Вопрос о возможности перехода к клиническим испытаниям, с точки зрения канцерогенной безопасности, может решаться на основании краткосрочных скрининговых тестов (КСТ), а не после получения результатов 2-3 летних экспериментов по индукции опухолей у животных, которые в случае недостаточной эффективности фармакологического средства в клинике могут оказаться ненужными [1].

Исходя из приведенных соображений, в настоящее время представляется приемлемой минимальная батарея КСТ, состоящая из теста на выявление генных мутаций, цитогенетического теста и теста на повреждение ДНК [2].

Одним из тестов, предназначенных для выявления способности фармакологических веществ или их метаболитов индуцировать генные мутации, является мутационный тест на индикаторных штаммах *Salmonella typhimurium* (тест Эймса). Тест Эймса является бактериальной тест-системой для учета мутаций к прототрофности по гистидину при действии химических соединений, индуцирующих мутации типа замены оснований или сдвига рамки считывания в геноме этого организма. В работе использовали индикаторные штаммы *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 98, TA 102. Эти штаммы несут мутации ауксотрофности по гистидину.

Целью данного исследования явилось во-первых выявление набором краткосрочных тестов способности эфирного масла аянии кустарничковой или его метаболитов индуцировать генные мутации у индикаторных штаммов *Salmonella typhimurium*, во-вторых выявление и количественная оценка потенциальной цитогенетической активности эфирного масла в клетках костного мозга крыс, и в – третьих выявление способности эфирного масла аянии кустарничковой и его метаболитов индуцировать повреждения ДНК у индикаторных штаммов *E. coli*.

Бактерии обрабатывали раствором эфирного масла аянии кустарничковой (растворитель – диметилсульфоксид) в стандартных концентрациях 10 и 100 мкг/чашку с системой метаболической активации и без метаболической активации. После инкубации подсчитывали количество ревертантных колоний у разных тестерных штаммов в сравнении с количеством спонтанных ревертантов в вариантах негативного контроля (культуры, обработанные только растворителем). В качестве позитивного контроля использовали нитрозометилмочевину (100 мкг/чашку) [1].

Превышение в числе колоний-ревертантов в полной микросомальной активирующей смеси говорит об эффективности функционирования системы микросомального окисления. В каждом контрольном и опытном варианте использовали по три чашки.

Эфирное масло аянии кустарничковой (ЭМАК) не вызывало статистически достоверного зависимого от дозы увеличения количества ревертантов, воспроизводимого и статистически достоверного позитивного ответа для какой-либо экспериментальной точки. Исходя из полученных результатов, у ЭМАК не выявлено мутагенного эффекта.

Учет аберраций хромосом в клетках костного мозга млекопитающих позволяет выявить цитогенетическую активность – способность вещества вызывать структурные и численные хромосомные нарушения в соматических и зародышевых клетках. В основе метода лежит регистрация видимых структурных нарушений хромосом в клетках на стадии метафазы. Клетки костного мозга характеризуются высоким уровнем митотической активности.

Изучение цитогенетической активности ЭМАК проводили на основании учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга и микроядер в эритроцитах самцов и самок крыс. Учет аберраций хромосом в клетках костного мозга проводили на самцах и самках крыс (по 10 особей в каждой контрольной и экспериментальной группах). В первой серии ЭМАК вводили внутрижелудочно самцам и самкам в субтоксической дозе 1600 мг/кг (1/2 ЛД₅₀) с фиксацией клеточного материала через 24 часа после введения. Во второй серии исследуемое эфирное масло вводили крысам обоего пола внутрижелудочно ежедневно на протяжении 4 суток в дозе 400 мг/кг и фиксацию осуществляли через 24 часа после последнего введения. В контрольной группе животные получали эквивалентное количество растворителя. В качестве позитивного контроля использовали противоопухолевый препарат циклофосфан в дозе 20 мг/кг (1/10 ЛД₅₀) при однократном внутрибрюшинном введении. Выделяли клетки костного мозга с анализом 100 метафазных пластинок от каждого животного. На основании микроядер в эритроцитах самцов и самок крыс анализировали 2000 полихроматофильных эритроцитов от каждого животного. Соотношение нормо- и полихроматофильных эритроцитов определяли при подсчете 500 эритроцитов. Проводили микроскопическую регистрацию клеток с микроядрами.

На основании полученных данных установлено, что доля поврежденных клеток в группе крыс, получавших ЭМАК в дозе 1600 мг/кг, оставалась на уровне структурных нарушений в негативном контроле и достоверно отличалась по самым важным показателям цитогенетической активности при сравнении с позитивным контролем. Следовательно, однократное внутрижелудочное введение ЭМАК не изменяет уровень хромосомных аберраций в клетках костного мозга крыс.

Курсовое введение ЭМАК в дозе 400 мг/кг у самцов и самок не изменяет доли поврежденных клеток костного мозга, не увеличивает количество клеток с пробелами хромосом по сравнению с негативным контролем.

Таким образом, анализ полученных результатов показал отсутствие достоверных изменений регистрируемых показателей по сравнению с негативным контролем, что свидетельствует об отсутствии цитогенетической активности эфирного масла аянии кустарничковой.

Репарационный тест на *Escherichia coli* (*E. coli*) является бактериальной тест-системой для учета дифференциальной выживаемости бактерий при действии химических соединений, индуцирующих в геноме *E. coli* повреждения ДНК, репарируемые в ходе эксцизионной и пострепликативной репарации. Данный метод предназначен для выявления способности фармакологических веществ и их метаболитов индуцировать повреждения ДНК у индикаторных штаммов *E. coli*. Репарационный тест на *E. coli* основан на регистрации дифференциальной выживаемости бактерий дикого типа и мутантных бактерий, дефектных по определенным этапам репарации ДНК. Бактерии обрабатываются тестируемым соединением с системой метаболической активации и без метаболической активации в жидкой среде. После инкубации регистрируется наличие бактериального роста у разных тестерных штаммов при одних и тех же концентрациях тестируемого соединения. В качестве тестерных организмов использовали штаммы *E. coli* В/г WP2 (дикий тип по репарации ДНК) и WP67 (*polA*) (мутантный штамм, дефектный по репарации ДНК).

Бактерии *E. coli* обрабатывали раствором эфирного масла аянии кустарничковой (растворитель – диметилсульфоксид) в концентрациях 0,1; 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625; 0,003125 мкг/мл. Негативный контроль обрабатывали только растворителем – диметилсульфоксидом. В качестве позитивного контроля использовали нафталин. Оптимальной дозой нафталина, вызывающей субингибирующий антимикробный эффект, оказалась доза 0,005 мкг/мл, так как 0,001 это конечная доза проявляющая бактериостатический эффект.

Было показано, что ЭМАК в исследуемых концентрациях не влияет на скорость роста клеток дикого и мутантного штаммов *E. coli*. Добавление ЭМАК не приводило к изменению количества колоний, их формы, не повлияло на размер зон гемолиза. При этом, нафталин в исследуемой концентрации ингибирует рост и гемолитические свойства мутантного штамма *E. coli*.

В результате проведения репарационного теста на *E. coli*, используя микроорганизм как бактериальную тест-систему для учета дифференциальной выживаемости бактерий при совместном культивировании эфирного масла аянии кустарничковой на наличие индуцирующих в геноме *E. coli*, повреждений ДНК, ЭМАК не индуцирует повреждений ДНК у *E. coli*.

Результаты испытания эфирного масла аянии кустарничковой в батарее КСТ позволяют сделать заключение об отсутствии канцерогенной опасности. Вместе с тем, это заключение носит вероятностный характер, так же, как и предсказание канцерогенной опасности вещества для человека на основании экспериментов по индукции опухолей у животных.

Литература

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития, Федеральное Государственное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». – Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – Москва: ОАО "Издательство "Медицина", 2005. – 832 с.
2. Белицкий Г.А., Худoley В.В., Краткосрочные тесты в системе выявления канцерогенных для человека химических соединений // Вопросы онкологии. – 1986. – Т. 32. - № 4. – С. 3–11.