

УДК 619:57.083.31

<https://doi.org/10.47612/2224-168X-2021-2-54-58>**Журавлёва Е.С.**, кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>**Бохан С.А.**, кандидат ветеринарных наук<sup>1</sup>**Азаров С.М.**, доктор технических наук, доцент<sup>2</sup>**Дробыш А.А.**, кандидат технических наук, доцент<sup>2</sup><sup>1</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского», г. Минск<sup>2</sup>УО «Белорусский национальный технический университет», г. Минск

## ПОРИСТЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ БАЗАЛЬТОВОГО ВОЛОКНА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ ДЛЯ СУБСТРАТ-ЗАВИСИМОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК

### Резюме

В работе оценено влияние на перевиваемую культуру клеток почки крупного рогатого скота (MDBK) образцов 4 инновационных материалов, разработанных в УО «Белорусский национальный технический университет» на основе базальтового волокна с добавками фарфора, оксидов меди, железа, циркония.

В ходе экспериментов определено, что образец, содержащий в своем составе базальт, 4 % фарфора и 4 % FeO, не оказывает негативного воздействия на культуру клеток MDBK. Материал данного образца является перспективным для дальнейшего применения в качестве носителя субстрат-зависимых культур клеток.

Материалы образцов, проявившие выраженное цитотоксическое действие (базальт + 4 % фарфора + 4 % CuO, базальт + 4 % фарфора + 8 % CuO, базальт + 4 % ZrO<sub>2</sub> + 4 % CuO), могут быть рассмотрены для изготовления бактерицидных фильтров. Данное действие объясняется, очевидно, проявившимися биоцидными свойствами меди, входящей в их состав.

**Ключевые слова:** MDBK, носитель, субстрат-зависимая культура клеток, пористая структура, базальтовое волокно, фарфор.

### Summary

The influence of samples of 4 innovative materials developed at the Belarusian National Technical University on the basis of basalt fiber with additives of porcelain, oxides of copper, iron, and zirconium on the transplanted culture of cattle kidney cells was evaluated in this work.

During the experiments, it was determined that the sample containing basalt, 4 % of porcelain and 4 % of FeO does not have a negative effect on the culture of MDBK cells. The material of this sample is promising for further use as a carrier for substrate-dependent cell cultures.

Sample materials showing a pronounced cytotoxic effect (basalt + 4 % porcelain + 4 % CuO, basalt + 4 % porcelain + 8 % CuO, basalt + 4 % ZrO<sub>2</sub> + 4 % CuO) can be considered for the manufacture of bactericidal filters. This action is explained, obviously, by the manifested biocidal properties of copper, which is part of their composition.

**Keywords:** MDBK, carrier, substrate-dependent cell culture, porous structure, basalt fiber, porcelain.

Поступила в редакцию 05.11.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Производство вирусных вакцин против инфекционных заболеваний животных невозможно без культивирования субстрат-зависимых линий клеток [1].

В настоящее время в Республике Беларусь наиболее распространены следующие технологии выращивания субстрат-зависимых линий клеток для культивирования вакцинных вирусов:

- в монослое на поверхности матрасов и роллерных флаконов;

- метод псевдосуспензионного культивирования в биореакторах с использованием микроносителей.

Метод культивирования субстрат-зависимых линий клеток в монослое на поверхности матрасов и роллерных флаконов крайне малопродуктивен из-за их низкой удельной поверхности и дорог ввиду высокой трудоемкости.

Метод псевдосуспензионного культивирования субстрат-зависимых клеток в биореакторах с использованием микроносителей высокопроизводителен, но технологически сложен.

Большой интерес представляет культивирование субстрат-зависимых линий клеток на проницаемых субстратах, которые имеют повышенную удельную поверхность. Рост клеток на таком субстрате способствует повышенной диффузии кислорода, CO<sub>2</sub> и питательных веществ. Некоторые производители в настоящее время поставляют проницаемые подложки, свободно вставляемые в лунки планшетов, разных размеров и материалов с различным диаметром пор (Costar, B-DBiosciences, Millipore, Nunc) [1], однако отечественных производителей среди них нет.

УО «Белорусский национальный технический университет» разработал носители на основе базальтовых пористых материалов, которые характеризуются повышенной (в 10 и более раз) удельной поверхностью, высокой пористостью, устойчивостью относительно тепловых ударов, (возможность автоклавирования при многократном использовании), способностью создавать условия роста, культивирования субстрат-зависимых линий клеток. Предположительно, создание пористой керамики из крупнодисперсных керамических частиц к указанным выше преимуществам добавит и увеличение коэффициента проницаемости.

В отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» проведен ряд исследований по применению материалов

для осветляющей и стерилизующей фильтрации биологических жидкостей [2, 3]. Однако исследования по применению пористых материалов на основе базальтового волокна в качестве носителей не проводились.

**Цель настоящей работы** – изучить возможность использования пористых материалов на основе базальтового волокна в качестве носителей для культивирования перевиваемых субстрат-зависимых линий клеток.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена на базе отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и УО «Белорусский национальный технический университет».

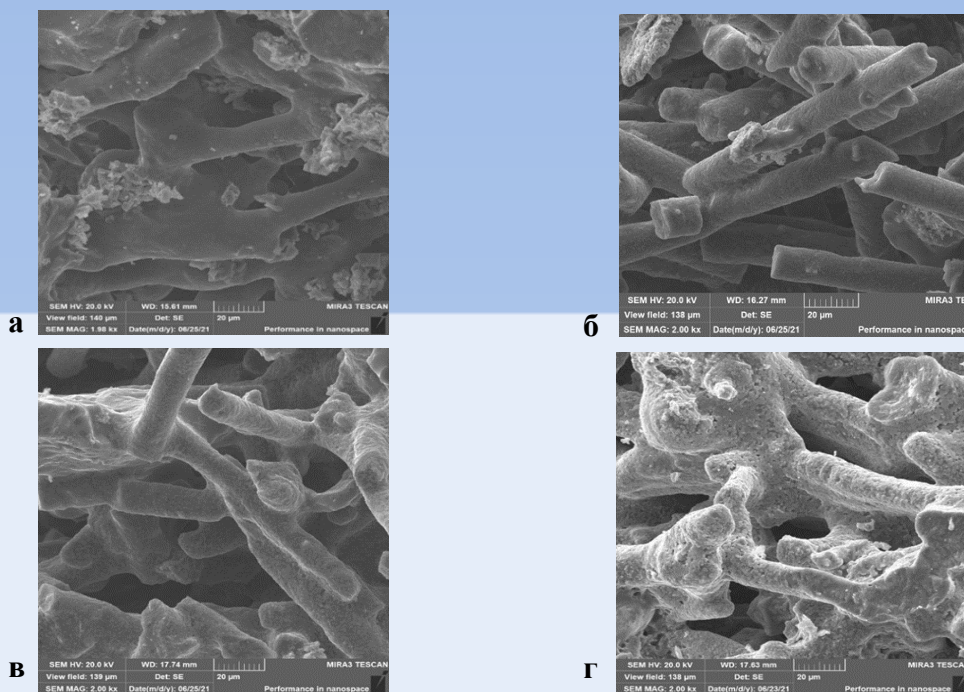
В работе оценено влияние на перевиваемую культуру клеток почки крупного рогатого скота (MDBK) экспериментальных образцов инновационных материалов, разработанных в УО «Белорусский национальный технический университет».

Экспериментальные образцы получены прессованием из базальтового волокна марки БС16-6-76 с добавками фарфора, оксидов меди, железа, циркония и изготовлены в виде дисков Ø 17 мм и высотой 2–5 мм. Спрессованные диски спекались на воздухе в лабораторной печи марки СНОЛ-5/14.

Температура спекания, фазовый состав и характеристики исследуемых образцов представлены в таблице. Изображения пористой структуры образцов представлены на рисунке 1.

Таблица. – Характеристики образцов

№ образца	Состав, мас %	Температура спекания, °С	Пористость, %	Прочность, МПа
1	Базальт + 4 % фарфора + 4 % FeO	1075	55–65	4–6
2	Базальт + 4 % фарфора + 4 % CuO	1075	55–65	4–6
3	Базальт + 4 % фарфора + 8 % CuO	1075	55–65	4–6
4	Базальт + 4 % ZrO <sub>2</sub> + 4 % CuO	1075	45–55	8–10



а – базальт + 4 % фарфора + 4 % FeO; б – базальт + 4 % фарфора + 4 % CuO;  
в – базальт + 4 % фарфора + 8 % CuO; г – базальт + 4 % ZrO<sub>2</sub> + 4 % CuO

**Рисунок 1. – Структура образцов**

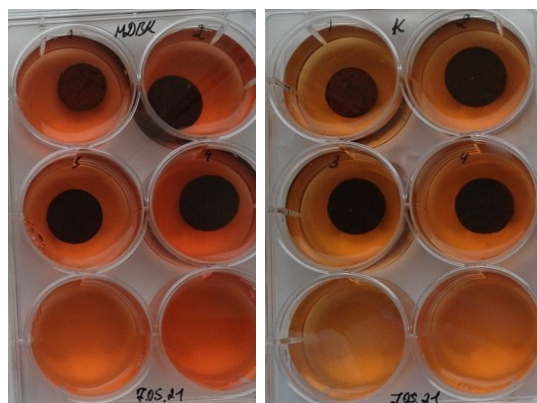
Известно, что оксиды железа различной валентности при накоплении в системах водоподготовки не препятствуют росту бактерий и микроорганизмов, следовательно, оксид железа в составе носителя для культуры клеток не должен оказывать негативного влияния на ее рост. Фарфор (соединение на основе Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub>) и оксид циркония ZrO<sub>2</sub> использовались для увеличения прочности образцов [4]. Оценочно размеры пор используемых материалов составляют 25–45 мкм, что создает благоприятные условия для 3D культивирования клеток в поровом пространстве. Температура спекания выше 1000 °С предполагает отсутствие химического взаимодействия

субстрат-зависимой культуры клеток с керамической поверхностью экспериментальных образцов.

Образцы помещены в 2 культуральных 6-луночных планшета.

В один планшет (опытный) добавлена суспензия культуры клеток MDBK с ростовой средой, во второй (контрольный) – только ростовая среда. Нижние лунки планшетов служили контролем клеток и контролем среды. Планшеты помещены в CO<sub>2</sub> инкубатор на 5 суток.

Интенсивность размножения клеток и состояние монослоя контролировали визуально под малым увеличением микроскопа (объектив ×10).



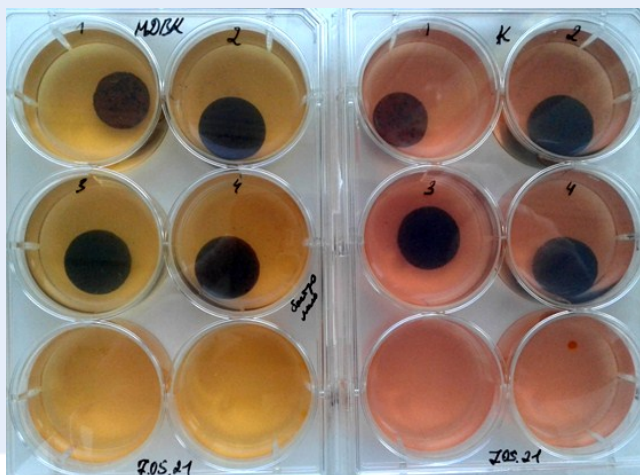
**Рисунок 2. – Планшеты с образцами до инкубирования**

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

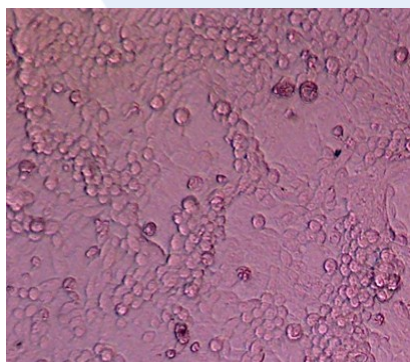
На рисунке 3 видно, что питательная среда в лунках планшета, не содержащих образцов, имеет такой же цвет, как и в лунках с образцами того же планшета. Следовательно, все представленные образцы не влияют на pH среды. Среда в

лунках, в которые добавлена культура клеток MDBK, пожелтела, что связано со сдвигом pH в кислую сторону под влиянием продуктов метаболизма клеток.

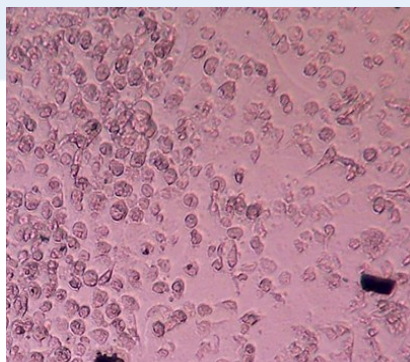
Результаты микроскопии монослоя клеток опытного планшета представлены на рисунках 4–8.



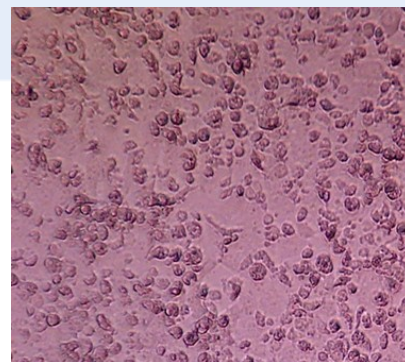
**Рисунок 3. – Планшеты с образцами после инкубирования**



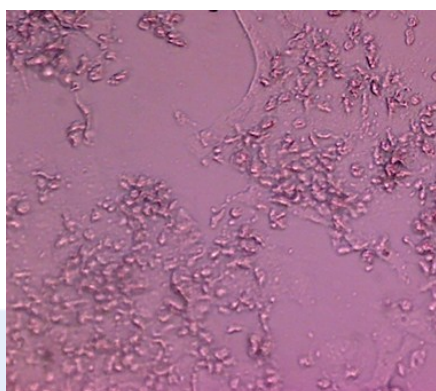
**Рисунок 4. – Монослой в лунке с образцом № 1**



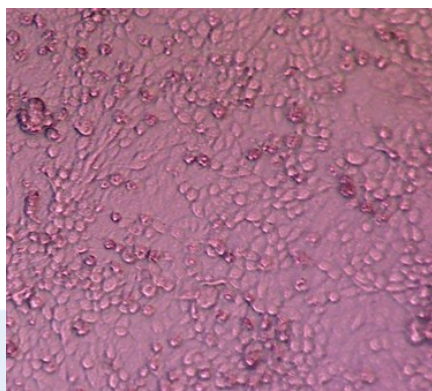
**Рисунок 5. – Монослой в лунке с образцом № 2**



**Рисунок 6. – Монослой в лунке с образцом № 3**



**Рисунок 7. – Монослой в лунке с образцом № 4**



**Рисунок 8. – Монослой в контрольной лунке, без образца**

На представленных рисунках видно, что в лунках, содержащих образцы № 2, № 3, № 4, наблюдается токсическое поражение культуры клеток (клетки сморщены, произошла дегенерация монослоя), в то время как культура клеток MDBK в лунке, содержащей образец № 1, морфологически ничем не отличается от контрольной лунки, не содержащей образца.

Таким образом, можно сделать вывод о цитотоксичности образцов № 2, № 3, № 4 и отсутствии цитотоксических свойств у образца № 1 (базальт + 4 % фарфора + 4 % FeO), который считаем перспективным в качестве носителя для культур клеток.

Выраженные цитотоксические свойства образцов № 2 (базальт + 4 % фарфора + 4 % CuO), № 3 (базальт + 4 % фар-

фора + 8 % CuO), № 4 (базальт + 4 % ZrO<sub>2</sub> + 4 % CuO) объясняются, очевидно, проявившимися биоцидными свойствами меди, входящей в их состав. Материалы данных образцов могут быть рассмотрены для изготовления бактерицидных фильтров.

### ВЫВОДЫ

1. Материал, содержащий в своем составе базальт, 4 % фарфора и 4 % FeO, является перспективным для дальнейшего применения в качестве носителя субстрат-зависимых культур клеток.

2. Материалы, содержащие базальт + 4 % фарфора + 4 % CuO, базальт + 4 % фарфора + 8 % CuO, базальт + 4 % ZrO<sub>2</sub> + 4 % CuO, могут быть рассмотрены для изготовления бактерицидных фильтров.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Фрешни, Р. Я. *Культура животных клеток : практ. руководство / Р. Я. Фрешни ; пер. 5-го англ. изд. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 691 с.*

2. *Regulation of Sintering Process of Selective Layers on A Large-Porous Aluminosilicate Substrate by Activating Modifiers / Y. Y. Piatsiushyk [et al.] // Euro PM 2018 Congress & Exhibition, EPMA, 4–13 September, 2018 : Proceedings, Bilbao, Spain. – Bilbao. – 4 p.*

3. *Влияние структуры пористых материалов на процессы ультрафильтрации при очистке биологических жидкостей / С. М. Азаров [и др.] // Новые материалы и технологии: порошковая металлургия, композиционные материалы, защитные покрытия, сварка: материалы 13-й Междунар. науч.-техн. конф., Минск, 16–18 мая 2018 г. – Минск : Беларуская навука, 2018. – С. 76–79.*

4. *Композиционные материалы на основе силикатов и алюмосиликатов / С. М. Азаров [и др.] – Минск : Беларуская навука, 2014. – 175 с.*

## Вакцина «РЕСПИВАК»

### ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

- вызывает выработку специфических антител у крупного рогатого скота к *Pasteurella multocida* серовариантов А, В и *Mannheimia haemolytica*;
- вводится внутримышечно;
- вакцинацию коров (тёлок) проводят независимо от срока стельности в дозе 2,0 см<sup>3</sup>;
- телок начинают вакцинировать с 15–16-месячного возраста;
  - телят вакцинируют с 5–10-дневного возраста в дозе 1,0 см<sup>3</sup>;
  - иммунитет наступает через 14–21 день после вакцинации и сохраняется в течение последующих 12 месяцев;
  - выпускают по 10, 20, 50, 100, 200, 400 см<sup>3</sup>;
  - срок годности вакцины – 18 месяцев при температуре от плюс 2 до плюс 8°С.



РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» 220003, г. Минск, ул. Брикета, 28, тел./факс (+37517) 508-81-31  
По вопросам приобретения Вы можете обратиться в отдел снабжения и сбыта тел. (017) 508-81-35 E-mail: bievm@tut.by