

Krykbaev Yerkin Aliybekovich – Doctoral student, "8D09101" – Veterinary Medicine" educational program, Senior Researcher, Antigen Research and Production Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasai district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7-702-365-43-04, e-mail: krykbaev_e@mail.ru.

Batanova Zhanat Mukhametkaliyevna – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Senior Researcher, Antigen Research and Production Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905 Almaty region, Karasai district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7-707-729-01-85, e-mail: batanova_77@mail.ru.

Mendybayeva Anara Muratovna – PhD, Senior Researcher, Antigen Research and Production Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasai district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7-705-108-08-38, e-mail: jks1992@mail.ru.

МРНТИ 34.25.17: 34.25.05

УДК 57.083; 578.1

https://doi.org/10.52269/22266070_2025_1_72

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВИРУСА БЕШЕНСТВА С ПОМОЩЬЮ ТРАНСПОРТНОЙ СРЕДЫ

Сансызбай А.Р.* – доктор ветеринарных наук, профессор, Казахский Национальный Аграрный Исследовательский Университет, г. Алматы, Республика Казахстан.

Крыкбаев Е.А. – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101 – Ветеринарная медицина», Казахский Национальный Аграрный Исследовательский Университет, г. Алматы, Республика Казахстан.

Муханов Д.К. – обучающийся PhD докторантуры, Заместитель Генерального директора по науке, Научный Производственно-Технический Центр «ЖАЛЫН», г. Алматы, Республика Казахстан.

Бердикулов М.А. – кандидат ветеринарных наук, Генеральный директор, «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВКН МСХ РК, г. Астана, Республика Казахстан.

Статья посвящена исследованию эффективности сохранения жизнеспособности вируса бешенства при использовании специализированной транспортной среды. Бешенство является опасным зоонозным заболеванием, и сохранение стабильности вируса в процессе транспортировки имеет критическое значение для диагностики, разработки вакцин и научных исследований. Цель работы заключалась в оценке влияния состава транспортной среды на стабильность вирусных частиц и их способность к репликации после транспортировки.

Результаты исследования показали, что использование специализированной транспортной среды значительно повышает стабильность вируса бешенства. Образцы, транспортированные в оптимизированной среде, демонстрировали более высокую жизнеспособность и способность к репликации по сравнению с контрольными образцами, транспортированными в стандартных условиях. Это подтверждает, что состав транспортной среды играет ключевую роль в сохранении целостности вирусных частиц.

В исследовании использовались методы серологии и вирусологии. Эксперименты включали моделирование условий транспортировки, таких как перепады температуры, с последующим анализом сохранности вирусных частиц. Транспортная среда была оптимизирована с учетом pH, осмотического давления и наличия стабилизирующих добавок.

Практическая значимость работы заключается в возможности улучшения условий транспортировки вируса бешенства, что особенно актуально для удаленных регионов с ограниченными ресурсами. Разработанная транспортная среда может быть использована для доставки вирусных образцов в диагностические лаборатории, что повысит точность диагностики и ускорит разработку новых препаратов. Кроме того, предложенная методика может быть адаптирована для транспортировки других вирусов, что расширяет ее применение в вирусологии и биотехнологии.

Ключевые слова: вирус бешенства, жизнеспособность вируса, транспортная среда, иммуноглобулины, транспортировка биоматериалов.

ТАСЫМАЛДАУ ОРТАСЫ АРҚЫЛЫ ҚҰТЫРУ ВИРУСЫНЫҢ ӨМІРШЕҢДІГІН САҚТАУ ТИІМДІЛІГІН ТАЛДАУ

Сансызбай А.Р.* – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті», Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Крыкбаев Е.А. – "8d09101" – Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантураның білім алушысы, «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті», Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Муханов Д.К. – PhD докторантураның білім алушысы, "ЖАЛЫН" ғылыми өндірістік-техникалық орталығы бас директорының ғылым жөніндегі орынбасары, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Бердикулов М.А. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, ҚР АШМ КВКН "ветеринария жөніндегі ұлттық референттік орталық" бас директоры, Астана қ., Қазақстан Республикасы.

Мақала мамандандырылған тасымалдау ортасы пайдалану кезінде құтыру вирусының өміршеңдігін сақтаудың тиімділігін зерттеуге арналған. Құтыру қауіпті зооноздық ауру болып табылады және тасымалдау процесінде вирустың тұрақтылығын сақтау диагностика, вакциналарды әзірлеу және ғылыми зерттеулер үшін өте маңызды. Жұмыстың мақсаты тасымалдау ортасы құрамының вирустық белшектердің тұрақтылығына және олардың тасымалдаудан кейінгі репликация қабілетіне әсерін бағалау болды.

Зерттеу нәтижелері мамандандырылған тасымалдау ортасы пайдалану құтыру вирусының тұрақтылығын айтарлықтай арттыратынын көрсетті. Оңтайландырылған ортада тасымалданатын үлгілер стандартты жағдайда тасымалданатын бақылау үлгілерімен салыстырғанда жоғары өміршеңдік пен репликация

қабілетін көрсетті. Бұл тасымалдау ортасының құрамы вирустық бөлшектердің тұтастығын сақтауда шешуші рөл атқаратынын растайды.

Зерттеуде серология және вирусология әдістері қолданылды. Тәжірибелер температураның өзгеруі сияқты тасымалдау жағдайларын модельдеуді, содан кейін вирустық бөлшектердің сақталуын талдауды қамтыды. Тасымалдау ортасы РН, осмоттық қысым және тұрақтандырғыш қоспалардың болуын ескере отырып, оңтайландырылды.

Жұмыстың практикалық маңыздылығы құтыру вирусын тасымалдау жағдайларын жақсарту мүмкіндігінде жатыр, бұл әсіресе ресурстары шектеулі шалғай аймақтар үшін маңызды. Дамыған тасымалдау ортасын диагностикалық зертханаларға вирустық үлгілерді жеткізу үшін пайдалануға болады, бұл диагностиканың дәлдігін арттырады және жаңа препараттардың дамуын тездетеді. Сонымен қатар, ұсынылған әдіс басқа вирустарды тасымалдауға бейімделуі мүмкін, бұл оның вирусология мен биотехнологияда қолданылуын кеңейтеді.

Түйінді сөздер: Құтыру вирусы, вирустың өміршеңдігі, тасымалдау ортасы, иммуноглобулиндер, биоматериалдарды тасымалдау.

ANALYSIS OF THE EFFICIENCY OF PRESERVING THE VIABILITY OF THE RABIES VIRUS USING A TRANSPORT MEDIUM

Sansyzbay A.R. * – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Krykbayev Y.A. – PhD student, "8D09101 – Veterinary Medicine" educational program, Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Mukhanov D.K. – PhD student, Deputy Director General for Scientific Affairs, ZHALYN Scientific Production and Technical Center, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Berdikulov M.A. – Candidate of Veterinary Sciences, Director General of the National Reference Center for Veterinary Medicine of the Veterinary Control and Supervision Committee, Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, Astana, Republic of Kazakhstan.

The article is devoted to the study of the efficiency of preserving the viability of the rabies virus using a specialized transport medium. Rabies is a dangerous zoonotic disease, and maintaining the virus stability during transportation is critical for diagnostics, vaccine development, and scientific research. The research purpose is to assess the effect of the composition of the transport medium on the stability of viral particles and their ability to replicate after transportation.

The research findings showed that the use of a specialized transport medium significantly increases the stability of the rabies virus. Samples transported in an optimized medium demonstrated higher viability and replication capacity compared to control samples transported under standard conditions. This confirms that the composition of the transport medium plays a key role in maintaining the integrity of viral particles.

The research used serology and virology methods. The experiments included modeling of transportation conditions, such as temperature changes, followed by an analysis of the integrity of viral particles. The transport medium was optimized taking into account pH, osmotic pressure, and the presence of stabilizing additives. The practical relevance of the research lies in potential improving the conditions for transporting the rabies virus, which is especially important for remote regions with limited resources. The developed transport medium can be used to deliver viral samples to diagnostic laboratories, thus increasing the accuracy of diagnostics and accelerating the development of new drugs. In addition, the proposed method can be adapted for transporting other viruses, which expands its application in virology and biotechnology.

Key words: rabies virus, virus viability, transport medium, immunoglobulins, transportation of biomaterials.

Введение

Вирус бешенства (Rabies virus) относится к роду Lyssavirus семейства Rhabdoviridae и является возбудителем одного из наиболее опасных зоонозных заболеваний – бешенства. Это заболевание характеризуется высокой летальностью и поражает центральную нервную систему, вызывая энцефалит у людей и животных. Бешенство остается серьезной проблемой для общественного здравоохранения, особенно в развивающихся странах, где доступ к вакцинации и своевременной медицинской помощи ограничен. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно от бешенства умирает около 59 000 человек, причем более 95% случаев приходится на регионы Азии и Африки [1, с. 5].

Одной из ключевых задач в борьбе с бешенством является обеспечение точной диагностики и разработка эффективных вакцин. Для этого необходимо сохранять жизнеспособность вируса в процессе транспортировки образцов из мест забора в диагностические лаборатории. Однако вирус бешенства крайне чувствителен к внешним воздействиям, таким как перепады температуры, ультрафиолетовое излучение и механические повреждения, что делает его транспортировку сложной задачей [2, с. 2].

В мире проводятся активные исследования, направленные на разработку методов стабилизации вирусов в процессе транспортировки. Например, в работе Liu et al. (2019) изучалось влияние различных транспортных сред на стабильность вируса гриппа, что позволило разработать оптимальные условия для его доставки [3, с. 3]. Другое исследование, проведенное Smith et al. (2020), продемонстрировало эффективность использования стабилизирующих добавок, таких как сахара и белки, для сохранения жизнеспособности вируса гепатита А [4, с. 1]. Однако, несмотря на значительный прогресс в этой области, вопросы, связанные с транспортировкой вируса бешенства, остаются недостаточно изученными.

Полимеразная цепная реакция, или ПЦР, является ключевым методом в таких областях как медицина, сельское хозяйство и криминалистика. Однако, для корректного проведения ПЦР необходимо строгое соблюдение режима температур во время транспортировки проб.

Недавние исследования изучали различные питательные среды и условия для размножения вируса бешенства в клетках Vero. Сравнительный анализ сред MEM и RPMI 1640 показал схожие титры вируса, причем

самые высокие титры достигали $10^{6,25}$ FFU/мл и $10^{6,125}$ FFU/мл соответственно [5, с. 3]. Культуры биореакторов на основе микроносителей давали более высокие концентрации клеток и титры вируса по сравнению с методами роллерных бутылок [6, с. 2]. Адаптация клеток Vero к росту суспензии в бессывороточных средах, в частности IPT-AFM, привела к плотности клеток, превышающей 2×10^6 клеток/мл, и титру вируса выше 10^7 FFU/мл [7, с. 8]. Для сохранения вируса хранение при -80°C и -196°C в среде на основе DMEM с добавлением 0,5% сыворотки плода крупного рогатого скота и либо 5% сахарозы, глицерина, либо мальтозы сохраняло высокую инфекционную активность в течение 24 месяцев. Краткосрочное хранение при 5°C было возможно, в то время как 37°C было неподходящим для сохранения [8, с. 7].

Транспортные среды для вирусов играют решающую роль в поддержании целостности вирусных образцов во время сбора и транспортировки для точной диагностики [9, с. 2]. Были разработаны различные среды для сохранения жизнеспособности вируса, антигенов и нуклеиновых кислот, предотвращая при этом загрязнение. Исследования сравнивали эффективность различных транспортных сред, таких как Puritan® UniTranz-RT™ и BD™ UVT, для сохранения клинически значимых вирусов, таких как аденовирус, вирус простого герпеса и гриппа А [10, с. 5]. Во время пандемии COVID-19 снижение доступности коммерческих тампонов и транспортных сред привело к оценке альтернативных вариантов. Исследования показали, что различные транспортные среды обеспечивают надежную временную стабильность для SARS-CoV-2 без значительного аналитического вмешательства в молекулярные анализы [11, с. 3]. Последние разработки направлены на создание транспортных сред, которые не только сохраняют вирусные нуклеиновые кислоты, но и инактивируют вирус, повышая безопасность и позволяя улучшить молекулярную диагностику.

Цель наших исследований заключалась в оценке эффективности специализированной транспортной среды для сохранения жизнеспособности вируса бешенства. Мы стремились определить, как состав среды влияет на стабильность вирусных частиц и их способность к репликации после транспортировки.

Исходя из вышеизложенного, **задачами исследования** является проведение сравнительного анализа эффективности сохранения жизнеспособности вируса бешенства в питательной среде DMEM и специализированной транспортной среды, с учетом 4 температурных режимов и различных промежутков времени.

Материалы и методы исследований

Транспортная среда

Транспортная среда производится с использованием готовых компонентов питательной среды 199 («Medium 199 with Earle's salts and L-Glutamine without Sodium Bicarbonate» Sigma-Aldrich, Inc. USA).

Вирус бешенства

Фиксированный штамм вируса бешенства CVS (*challenge virus standard*) – 11. Вирус относится к группе миксовирусов рода *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*. Штамм вируса приобретен в международном референс центре ATCC. Штамм вируса адаптирован к первично-трипсинизированным и перевиваемым культурам клеток.

Культура клеток

Культура клеток ВНК-21 (Baby Hamster Kidney) представляет собой линию фибробластоподобных клеток, полученных из почки сирийского хомяка. Эти клетки широко используются в вирусологии, молекулярной биологии и биотехнологии благодаря высокой способности к пролиферации и восприимчивости к различным вирусам, включая вирусы семейства *Rhabdoviridae*. Клетки ВНК-21 культивируются в монослое, обладают высокой устойчивостью к изменениям условий культивирования и хорошо адаптируются к росту в суспензии, что делает их удобными для промышленного производства вакцин и рекомбинантных белков. При заражении вирусами клетки ВНК-21 демонстрируют цитопатогенное действие (ЦПД), проявляющееся в окружении клеток, деградации монослоя и образовании синцитиев, что позволяет использовать их для изучения вирусной репликации и тестирования противовирусных препаратов.

Оборудование

Термостат BINDER KT 53 (Германия, 2019 год.).

Бытовой холодильник Atlant MXM-2835-90 (Республика Беларусь, 2018 год).

Флуоресцентный Микроскоп Olympus BX53 с увеличительной линзой 10X/0.30 (Япония, 2021 год).

Инвертированный микроскоп Motic AE31 (Китай, 2015 год).

Контроль цитопатогенного действия

Контроль за цитопатогенным действием (ЦПД) вируса бешенства на культуре клеток включает визуальную оценку морфологических изменений клеток под световым инвертированным микроскопом. После заражения клеток вирусом и инкубации в оптимальных условиях (обычно 37°C , 5% CO_2) в течение 24-72 часов, клетки исследовались на наличие характерных признаков ЦПД, таких как округление, деградация, образование синцитиев, вакуолизация или полное разрушение монослоя. Для повышения точности наблюдений использовали инвертированный микроскоп с фазовым контрастом, что позволяет детально оценить изменения в структуре клеток. Результаты фиксируют с помощью микрофотографий и сравнивают с контролем (незараженными клетками) для определения степени цитопатогенного эффекта.

Реакция иммунофлуоресценции

Иммуноглобулин антирабический флуоресцирующий диагностический "ФЛУРАБ" предназначается для диагностики бешенства. Он позволяет обнаруживать рабический антиген в различном патологическом материале, в частности, в головном мозге и культурах клеток. Методика реакции иммунофлуоресценции (РИФ) основана на использовании специфических антител, меченных флуоресцентными красителями, для визуализации целевых антигенов в клетках или тканях. Клетки фиксируют на предметном стекле с помощью параформальдегида или ацетона, после чего обрабатывают блокирующим буфером для предотвращения неспецифического связывания. Затем наносят первичные антитела, специфичные к исследуемому антигену, и инкубируют при комнатной температуре. После промывки добавляют вторичные антитела, конъюгированные с флуоресцентным красителем (например, FITC или Alexa Fluor), и инкубируют в темноте. Препараты промывают, монтируют с использованием флуоресцентного mounting medium и анализируют с помощью флуоресцентного микроскопа. РИФ позволяет точно локализовать антигены в клетках и оценить их экспрессию, что делает метод ценным инструментом в диагностике и исследованиях.

Исследование стабильности вируса в транспортной среде

Развели контрольный образец вируса бешенства на 4 части, объемом по 1 миллилитру и поместили в транспортные среды. Активность вируса бешенства после разведения составлял Ig ТЦД 6,25-6,50.

Транспортные среды выдерживали в термостате при температуре +37°C в течение 2 часов.

Затем помещали каждую зараженную транспортную среду в заранее приготовленную температурную среду: +37°C, +12°C, 0°C, -10°C.

Инкубировали транспортные среды в течение 36 часов.

По истечении 36 часов после начала анализа мы извлекли транспортные среды из температурных сред. И взяв по 0,2 миллилитра суспензии из транспортных сред, внесли в пластиковые культуральные флаконы (JetBioFiltration TCF001050 25 см²), с монослоем культуры клеток ВНК-21. И поместили флакон в термостат при температуре +37°C на 2 дня для развития и закрепление вируса на монослое.

По истечении двух дней мы провели оптическую микроскопию для обнаружения цитопатогенного действия вируса на перевиваемой культуры клеток ВНК-21.

По результатам микроскопии отбираем флаконы с имеющим цитопатогенным действием и проводим реакцию именно флюоресценцию – сливаем питательную среду DMEM, фиксируем в охлажденном ацетоне при температуре минус 8-20° в течение 30 минут. Вскрываем ампулу с «ФЛУРАБ», ее содержимое растворили в 0,5 мл дистиллированной воды, затем, добавлением стерильный физиологический раствор хлорида натрия, доводим общий объем иммуноглобулина до объема, определяющего рабочее разведение, указанное на этикетке. Затем пробирки выдерживали в течение 30 минут при температуре +37°, затем в течение 1 часа выдерживаем в 2-х сменах физиологического раствора, ополаскивали дистиллированной водой.

Результаты и обсуждение

Для исследования мы проводили сравнительный анализ эффективности сохранения жизнедеятельности вируса бешенства в стандартной питательной среде и в специализированной транспортной среде.

Для исследования мы выбрали 4 показателя температуры, что позволяет оценить эффективность питательной среды DMEM и транспортной среды в различных ситуациях и в течение различных промежутков времени. Результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Показатели температуры и жизнедеятельности вируса бешенства в питательной среде DMEM в различные промежутки времени

№	Показатель температуры, °C	Жизнедеятельность / Время, ч			
		6	12	24	36
1.	+37 ± 0,1	+	-	-	-
2.	+12 ± 0,1	+	+	-	-
3.	0 ± 0,1	+	+	+	-
4.	-10 ± 0,1	+	-	-	-

Показатель температуры +37 °C

В начале эксперимента (6 часов) вирус бешенства проявил активную жизнедеятельность. Вирус поразил клетки стабильно, что показало микроскопирование с четкими признаками ЦПД.

В течение первых часов (время 12 часов) жизнедеятельность вирусов не сохраняется, что подтверждается микроскопией, клетки не поменяли структуру, признаков ЦПД не наблюдается.

Проведя реакцию иммунофлюоресценции, мы можем наблюдать четкую картину присутствия вируса в первом временном промежутке (6 часов), и отсутствие жизнедеятельности вируса бешенства через 12 часов в питательной среде DMEM, что доказывает отсутствие цитопатогенного действия.

Показатель температуры +12 °C

Вирус бешенства в начале эксперимента (6 часов) проявляет стабильную жизнедеятельность – это видно четким проявлением цитопатогенного действия на монослое культуры клеток.

В течение первых часов (12 часов) жизнедеятельность вирусов сохраняется. Тем самым вирус показывает свою стабильную работу в данном температурном режиме, что доказывает цитопатогенное действие.

В течение следующих 12 часов (24 часов) жизнедеятельность вируса не сохраняется. Как в прошлых временных отрезках. Проведя реакцию иммунофлюоресценции, мы можем наблюдать четкую картину присутствия вируса в временных промежутках 6 и 12 часов, и отсутствие жизнедеятельности вируса бешенства через 24 часа в питательной среде DMEM, что доказывает отсутствие цитопатогенного действия.

Показатель температуры 0 °C

В данном температурном режиме вирус бешенства в начале (6 часов) показал стабильную жизнедеятельность.

Во втором временном отрезке (12 часов) вирус показал стабильность и жизнедеятельность.

В течение следующих 12 часов (24 часов) жизнедеятельность вирусов продолжает сохраняться, что доказывает четкая картина цитопатогенного действия.

Через 36 часов жизнедеятельность вирусов не сохраняется, мы можем наблюдать отсутствие жизнедеятельности вируса бешенства в питательной среде DMEM, что доказывает отсутствие цитопатогенного действия

Показатель температуры -10 °C

В первом временном отрезке вирус (6 часов) проявляют активную жизнедеятельность. Что доказывает цитопатогенное действие на клеточном монослое.

В течение первых часов (12 часов) жизнедеятельность вирусов не сохраняется, что подтверждается микроскопией, клетки не поменяли структуру, признаков ЦПД не наблюдается.

Проведя реакцию иммунофлюоресценции, мы можем наблюдать четкую картину присутствия вируса в первом временном промежутке (6 часов), и отсутствие жизнедеятельности вируса бешенства через 12 часов в питательной среде DMEM, что доказывает отсутствие цитопатогенного действия.

Таблица 2 – Показатели температуры и жизнедеятельности вируса бешенства в транспортной среде в различные промежутки времени

№	Показатель температуры, °С	Жизнедеятельность / Время, ч			
		6	12	24	36
1.	+37 ± 0,1	+	+	+	-
2.	+12 ± 0,1	+	+	+	+
3.	0 ± 0,1	+	+	+	+
4.	-10 ± 0,1	+	+	-	-

Показатель температуры +37 °С

В начале эксперимента (6 часов) вирус бешенства проявил активную жизнедеятельность. Вирус поразил клетки стабильно, что показало микроскопирование с четкими признаками ЦПД.

В течение первых часов (12 часов) жизнедеятельность вирусов сохраняется.

В течение следующих 12 часов (24 часов) жизнедеятельность вирусов продолжает сохраняться, что доказывает цитопатогенное действие при детальном анализе.

Однако, после 36 часов жизнедеятельность вирусов прекращается, что подтверждается микроскопией, клетки не поменяли структуру, признаков ЦПД не наблюдается.

Проведя реакцию иммунофлюоресценции, мы можем наблюдать четкую картину присутствия вируса в первых трех временных промежутках (6, 12, 24 часов). По окончании 36 часов вируса в транспортной среде не обнаружилось, что доказывает отсутствие цитопатогенного действия.

Показатель температуры +12 °С

Вирус бешенства в начале эксперимента (6 часов) проявляет стабильную жизнедеятельность – это видно четким проявлением цитопатогенного действия на культуральном монослое.

В течение первых часов (12 часов) жизнедеятельность вирусов сохраняется. Тем самым вирус показывает свою стабильную работу в данном температурном режиме, что доказывает цитопатогенное действие.

В течение следующих 12 часов (24 часов) жизнедеятельность вирусов продолжает сохраняться. Как в прошлых временных отрезках.

Через 36 часов жизнедеятельность вирусов продолжает сохраняться.

Проведя реакцию иммунофлюоресценции, мы можем наблюдать четкую картину присутствия вируса во всех временных промежутках (6, 12, 24 и 36 часов).

Показатель температуры 0 °С

В данном температурном режиме вирус бешенства в начале (6 часов) показал стабильную жизнедеятельность.

Во втором временном отрезке (время 12 часов) вирус показал стабильность жизнедеятельности.

В течение следующих 12 часов (24 часов) жизнедеятельность вирусов продолжает сохраняться, что доказывает четкая картина цитопатогенного действия.

Через 36 часов жизнедеятельность вирусов продолжает сохраняться.

Проведя реакцию иммунофлюоресценции, мы можем наблюдать четкую картину присутствия вируса во всех временных промежутках (6, 12, 24 и 36 часов).

Показатель температуры -10 °С

В первом временном отрезке вирус (6 часов) проявляет активную жизнедеятельность. Что доказывает цитопатогенное действие на клеточном монослое.

В течение следующих часов (12 часов) жизнедеятельность вируса сохраняется.

В последующих двух промежутках времени (24, 36 часов) вирус бешенства не показал активности и свою жизнедеятельность, что доказывает отсутствие цитопатогенного действия.

Проведя реакцию иммунофлюоресценции, мы можем наблюдать четкую картину присутствия вируса в первых двух временных промежутках (6, 12 часов). По окончании 24, 36 часов вируса в транспортной среде не обнаружилось, что доказывает отсутствие цитопатогенного действия.

Результаты микроскопирования культуры клеток ВНК-21 представлены на рисунках 1, 2, 3 и 4.

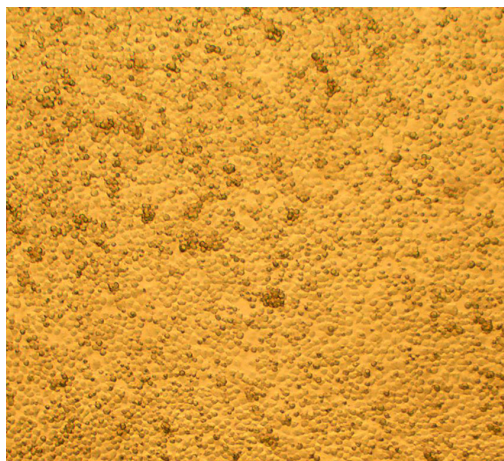


Рисунок 1 – Культура клеток без признаков ЦПД (Culture cells without signs of CPA)

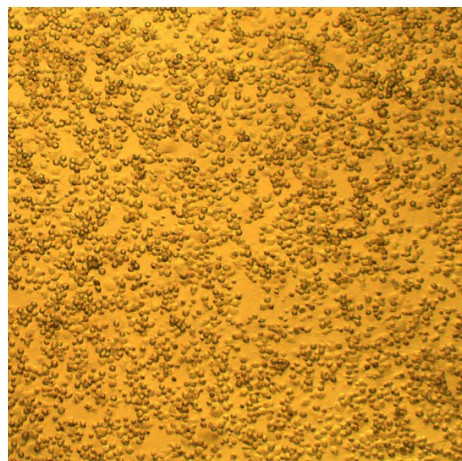


Рисунок 2 – Культура клеток с признаками ЦПД (Culture of cells with characteristics CPA)

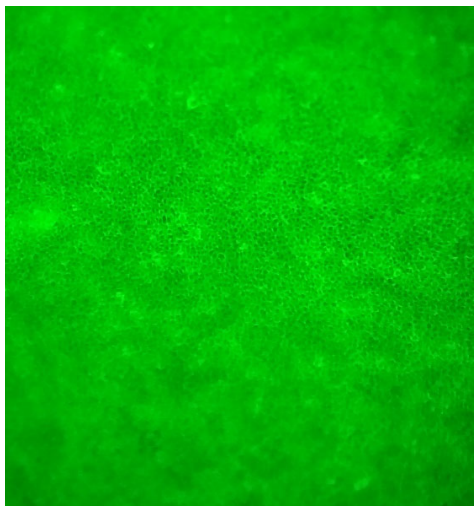


Рисунок 3 – Реакция иммунофлюоресценции без признаков ЦПД (Immunofluorescence reaction without signs CPA)

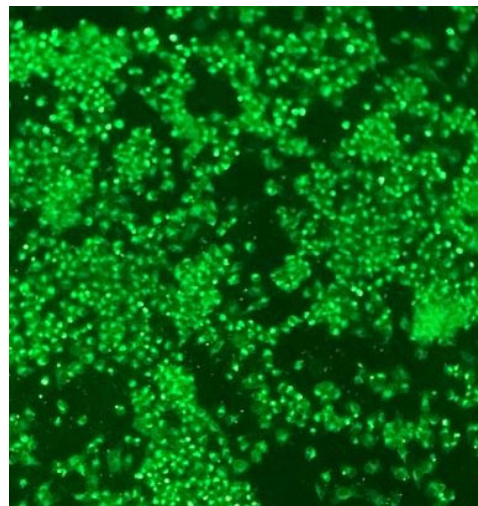


Рисунок 4 – Реакция иммунофлюоресценции с признаками ЦПД (immunofluorescence reaction with signs CPA)

Как видно на данных рисунках, наличие признаков цитопатогенного действия проявляется округлением и шелушением клеток, с последующим откреплением монослоя клеток. На рисунках с РИФ, в контрольных образцах без вируса бешенства можем наблюдать равномерный монослой без очагов свечения, в образцах с вирусом бешенства можем наблюдать большие очаги свечения.

Заключение

Проведенное исследование было направлено на оценку эффективности сохранения жизнеспособности вируса бешенства при использовании специализированной транспортной среды. Бешенство остается одной из наиболее опасных зоонозных инфекций, и сохранение стабильности вируса в процессе транспортировки имеет критическое значение для успешной диагностики, разработки вакцин и проведения научных исследований. Результаты работы демонстрируют, что оптимизация состава транспортной среды играет ключевую роль в поддержании жизнеспособности вирусных частиц и их способности к репликации после транспортировки.

Результаты исследования показали, что использование специализированной транспортной среды значительно повышает стабильность вируса бешенства. Образцы, транспортированные в оптимизированной среде, демонстрировали более высокую жизнеспособность и способность к репликации по сравнению с контрольными образцами, транспортированными в стандартных условиях. Это подтверждает, что состав транспортной среды является критически важным фактором, влияющим на сохранение целостности вирусных частиц. Кроме того, было установлено, что добавление стабилизирующих компонентов, таких как белки и сахара, способствует защите вируса от деградации, вызванной внешними воздействиями.

Таким образом, температура оказывает значительное влияние на жизнедеятельность вирусов. Когда температура повышается до $+37^{\circ}\text{C}$, вирусы активно развиваются и проявляют жизнедеятельность. Однако, после 36 часов при этой температуре, жизнедеятельность вирусов прекращается.

При более низких температурах, таких как $+12^{\circ}\text{C}$ и 0°C , вирусы также проявляют активность и сохраняют свою жизнедеятельность в течение этого времени. Это означает, что они способны продолжать свою функциональность и размножаться в течение этого времени при данных температурах.

Однако, при температуре -10°C вирусы прекращают свою жизнедеятельность после 36 часов. Это может быть связано с тем, что низкая температура существенно замедляет или останавливает биохимические процессы, необходимые для жизнедеятельности вирусов.

В целом, эти данные указывают на то, что температура окружающей среды играет важную роль в жизнедеятельности вирусов. Высокие температуры способствуют их развитию, но при этом могут ограничивать их долговременную выживаемость. Низкие температуры также поддерживают их активность, но имеют предел, после которого жизнедеятельность вирусов снижается или полностью прекращается.

Кроме того, предложенная методика может быть адаптирована для транспортировки других вирусов, что расширяет ее применение в вирусологии и биотехнологии. Например, она может быть использована для доставки образцов вирусов гриппа, гепатита или других патогенов, требующих особых условий хранения и транспортировки. Это открывает новые возможности для улучшения диагностики, разработки вакцин и проведения научных исследований в области вирусологии.

В заключение можно отметить, что результаты исследования имеют значительный потенциал для практического применения для своевременной диагностики бешенства и других заболеваний. Оптимизация транспортной среды для вируса бешенства является важным шагом в повышении эффективности борьбы с этим опасным заболеванием. Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение влияния других факторов, таких как длительность транспортировки и условия хранения, на стабильность вирусных частиц. Это позволит еще больше улучшить методы транспортировки и хранения вирусов, что в конечном итоге будет способствовать повышению качества диагностики и разработки новых методов лечения и профилактики вирусных инфекций.

Таким образом, проведенное исследование вносит значительный вклад в развитие вирусологии и биотехнологии, предлагая практические решения для улучшения условий транспортировки вируса бешенства и других патогенов. Результаты работы подчеркивают важность междисциплинарного подхода, объединяющего

достижения молекулярной биологии, вирусологии и биотехнологии, для решения актуальных проблем в области здравоохранения и науки.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № BR24993032) “Разработка технологий получения гипериммунных биогенных препаратов для профилактики и лечения болезней животных, вызываемых бактериями и вирусами”.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Nurumal S. R., Mansor J., Ghazali M., Pakhurdin N. A. M., Atil A., Jeffree M. S., Hassan M. R., **ANIMAL RABIES: A SYSTEMATIC REVIEW** [Text] / Nurumal S. R., Mansor J., Ghazali M., Pakhurdin N. A. M., Atil A., Jeffree M. S., Hassan M. R. // *Malaysian Journal of Public Health Medicine*. – 2022. – 22(3). – pp.145-152.
2. Fooks A. R., Banyard A. C., Horton D. L., Johnson N., McElhinney L. M., Jackson A. C., Fooks, **Current status of rabies and prospects for elimination** [Text] / Fooks A. R., Banyard A. C., Horton D. L., Johnson N., McElhinney L. M., Jackson A. C. // *The Lancet*. – 2014. – 384(9951). – pp.1389-1399.
3. Vreede F. T., Ng A. K., Shaw P. C., Fodor E., **Stabilization of influenza virus replication intermediates is dependent on the RNA-binding but not the homo-oligomerization activity of the viral nucleoprotein** [Text] / Vreede F. T., Ng A. K., Shaw P. C., Fodor E. // *Journal of virology*. – 2011. –85(22). – pp.12073–12078.
4. Hegde S., Roma M., **Current developments in transport media for avulsed teeth: an update** [Text] / Hegde S., Roma M. // *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. – 2017. – Vol. 10, no. 2. – pp.43-46.
5. Sekar T., Grace B. E., Nivetha K., Parveen M. H., Mohan G.C., **Comparative Analysis of MEM, RPMI 1640 Media on Rabies Virus Propagation in Vero Cells and Virus Quantification by FAT** [Text] / Sekar T., Grace B. E., Nivetha K., Parveen M. H., Mohan G.C. // *Asian Journal of Biology*. – 2023. – 19(2). – pp.46-53.
6. Sekar T., Premkumar A. A., Mohan G.C., Palaniappan C., Sekar B., **Standardization of microcarrier based bioreactor culture in parallel with roller bottle for rabies virus (PV-11) propagation in Vero cell using MEM eagle’s and RPMI 1640 medium** [Text] / Sekar T., Premkumar A. A., Mohan G.C., Palaniappan C., Sekar B. // *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. –2022. – 12(3). – pp.323-334.
7. Rourou S., Zakkour M. B., Kallel H., **Adaptation of Vero cells to suspension growth for rabies virus production in different serum free media** [Text] / Rourou S., Zakkour M. B., Kallel H. // *Vaccine*. – 2019. – 37(47). – pp.6987-6995
8. Varianytsia V., Vysekantsev I., **Impact of storage temperature regimens and protective media composition on rabies virus CVS strain preservation** [Text] / Varianytsia V., Vysekantsev I. // *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. – 2020. – 30(2). – pp.148-157.
9. Dsa O. C., Kadni T. S., N. S., **From cold chain to ambient temperature: transport of viral specimens-a review** [Text] / Dsa O. C., Kadni T. S., N. S. // *Annals of Medicine*. – 2023. – 55(2). – 2257711 P.
10. Brasel T., Madhusudhan K. T., Agans K., Dearen K., Jones S. L., Sherwood R. L., **Performance evaluation of Puritan® universal transport system (UniTranz-RT™) for preservation and transport of clinical viruses** [Text] / Brasel T., Madhusudhan K. T., Agans K., Dearen K., Jones S. L., Sherwood R. L. // *Journal of Medical Virology*. – 2015. – 87(10). – pp.1796-1805.
11. Penrod Y., Garcia D., Dunn S. T., **Evaluation of transport media for laboratory detection of SARS-CoV-2 in upper respiratory tract swab specimens** [Text] / Penrod Y., Garcia D., Dunn S. T. // *Journal of Medical Virology*. – 2021. – 93(5). – pp. 2774-2781.

REFERENCES:

1. Nurumal S.R., Mansor J., Ghazali M. et al. **Animal rabies: a systematic review**. *Malaysian Journal of Public Health Medicine*, 2022, 22(3), pp.145-152.
2. Fooks A.R., Banyard A.C., Horton D.L. et al. **Current status of rabies and prospects for elimination**. *Lancet*, London, England, 2014, 384(9951), pp. 1389–1399.
3. Vreede F.T., Ng A.K., Shaw P.C., Fodor E. **Stabilization of influenza virus replication intermediates is dependent on the RNA-binding but not the homo-oligomerization activity of the viral nucleoprotein**. *Journal of virology*, 2011, 85(22), pp. 12073–12078.
4. Hegde S., Mascarenhas R.E. **Current developments in transport media for avulsed teeth: an update**. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2017, 10(2), pp. 43–46.
5. Sekar T., Grace B. E., Nivetha K., Parveen M.H., Mohan G.C. **Comparative Analysis of MEM, RPMI 1640 Media on Rabies Virus Propagation in Vero Cells and Virus Quantification by FAT**. *Asian Journal of Biology*, 2023, 19(2), pp. 46-53.
6. Sekar T., Premkumar A. A., Mohan G.C., Palaniappan C., Sekar B. **Standardization of microcarrier based bioreactor culture in parallel with roller bottle for rabies virus (PV-11) propagation in Vero cell using MEM eagle’s and RPMI 1640 medium**. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 2022, 12(3), pp. 323-334.
7. Rourou S., Zakkour M. B., Kallel H. **Adaptation of Vero cells to suspension growth for rabies virus production in different serum free media**. *Vaccine*, 2019, 37(47), pp. 6987-6995.
8. Varianytsia V., Vysekantsev I., **Impact of storage temperature regimens and protective media composition on rabies virus CVS strain preservation**. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*, 2020, 30(2), pp. 148-157.
9. Dsa O.C., Kadni T.S., Sudheesh N. **From cold chain to ambient temperature: transport of viral specimens-a review**. *Annals of Medicine*, 2023, 55(2), 2257711.
10. Brasel T., Madhusudhan K.T., Agans K. et al. **Performance evaluation of Puritan® universal transport system (UniTranz-RT™) for preservation and transport of clinical viruses**. *Journal of Medical Virology*, 2015, 87(10), pp. 1796-1805.
11. Penrod Y., Garcia D., Dunn S. T., **Evaluation of transport media for laboratory detection of SARS-CoV-2 in upper respiratory tract swab specimens**. *Journal of Medical Virology*, 2021, 93(5), pp. 2774-2781.

Сведения об авторах:

Сансызбай Абылай Рысбаевич* – доктор ветеринарных наук, профессор, Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Республика Казахстан, 050000, г. Алматы, ул. имени Валиханова 137, тел.: +7-701-880-25-25, e-mail: sansyzbai-ar@mail.ru.

Крыкбаев Еркін Алийбекович – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101 – Ветеринарная медицина», Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Республика Казахстан, 050000, г. Алматы, ул. имени Валиханова 137, тел.: +7-702-365-43-04, e-mail: krykbaev_e@mail.ru.

Муханов Даурен Кабдракимович – обучающийся PhD докторантуры, Заместитель Генерального директора по науке, Научный производственно-технический центр «ЖАЛЫН», Республика Казахстан, 050000, г. Алматы ул. Павлодарская 11, тел.: +7-705-220-10-28, e-mail: dd_511@mail.ru.

Бердикулов Максат Аманбекович – кандидат ветеринарных наук, Генеральный директор, «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВКН МСХ РК, Республика Казахстан, 010000, г. Астана, ул. 150 лет Абая, дом 22/3, тел.: +7-775-302-44-00, e-mail: berdikulov.ma@mail.ru.

Сансызбай Абылай Рысбаевич* – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Қазақстан Республикасы, 050000, Алматы қ. Уәлиханов атындағы көш, 137, тел.: +7-701-880-25-25, e-mail: sansyzbai-ar@mail.ru.

Крыкбаев Еркін Алийбекович – "8d09101" – Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантураның білім алушысы, Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Қазақстан Республикасы, 050000, Алматы қ., Уәлиханов атындағы көшесі 137, тел.: +7-702-365-43-04, e-mail: krykbaev_e@mail.ru.

Муханов Даурен Кабдракимович – PhD докторантураның білім алушысы, "ЖАЛЫН" ғылыми өндірістік-техникалық орталығы бас директорының ғылым жөніндегі орынбасары, Қазақстан Республикасы, 050000, Алматы қ., Павлодар көш, 11, тел.: 87052201028, e-mail: dd_511@mail.ru.

Бердикулов Максат Аманбекович – ветеринария ғылымдарының кандидаты, ҚР АШМ КВКН "ветеринария жөніндегі ұлттық референттік орталық" бас директоры, Қазақстан Республикасы, 010000, Астана қ., Абай көш 150 жыл, 22/3 үй, Қазақстан Республикасы, тел.: +7-775-302-44-00, e-mail: berdikulov.ma@mail.ru.

Sansyzbay Abylay Rysbayevich* – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Kazakh National Agrarian Research University, Republic of Kazakhstan, 050000, Almaty, 137 Valikhanov Str., tel.: +7-701-880-25-25, e-mail: sansyzbai-ar@mail.ru.

Krykbaev Yerkin Aliybekovich – PhD student, "8D09101 – Veterinary Medicine" educational program, Kazakh National Agrarian Research University, Republic of Kazakhstan, 050000, Almaty, 137 Valikhanov Str., tel.: +7-702-365-43-04, e-mail: krykbaev_e@mail.ru.

Mukhanov Dauren Kabdrakimovich – PhD student, Deputy Director General for Scientific Affairs, ZHALYN Scientific Production and Technical Center, Republic of Kazakhstan, 050000, Almaty, 11 Pavlodarskaya Str., tel.: +7-705-220-10-28, e-mail: dd_511@mail.ru.

Berdikulov Maksat Amanbekovich – Candidate of Veterinary Sciences, Director General of the National Reference Center for Veterinary Medicine of the Veterinary Control and Supervision Committee, Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, Republic of Kazakhstan, 010000, Astana, 150 let Abaya Str., bld. 22/3, tel.: +7-775-302-44-00, e-mail: berdikulov.ma@mail.ru.

XFTAP 68.41.33

ӨОЖ 619:616.61-008.64:636.8

https://doi.org/10.52269/22266070_2025_1_79

ҰСАҚ ҮЙ ЖАНУАРЛАРЫНЫҢ СОЗЫЛМАЛЫ БҮЙРЕК ЖЕТКІЛІКСІЗДІГІНДЕГІ МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ФУНКЦИОНАЛДЫҚ ӨЗГЕРІСТЕР

Хасанова М.А.* – PhD докторы, ветеринариялық медицина кафедрасының қауымдастырылған профессоры, «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қостанай қ., Қазақстан Республикасы.

Каилова А.А. – Ветеринариялық медицина кафедрасының 2 курс магистранты, «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қостанай қ., Қазақстан Республикасы.

Абилова З.Б. – PhD докторы, ветеринариялық медицина кафедрасының қауымдастырылған профессоры м.а., «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қостанай қ., Қазақстан Республикасы.

Сапа В.А. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, ветеринариялық медицина кафедрасының қауымдастырылған профессоры м.а., «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қостанай қ., Қазақстан Республикасы.

Мақалада мысықтарда созылмалы бүйрек жеткіліксіздігі кезінде пайда болатын морфологиялық және функционалдық өзгерістер қарастырылады. Созылмалы бүйрек жеткіліксіздігінің әртүрлі кезеңдеріндегі мысықтардың клиникалық және биохимиялық қан мен зәр көрсеткіштерін талдау, сондай-ақ бүйректерінің ультрадыбыстық зерттеуі жүргізілді. Нәтижесінде аурудың үдеуін көрсететін негізгі көрсеткіштер анықталды: креатинин мен мочевианың деңгейінің жоғарылауы, бүйрек тінінің эхогенділігінің күшеюі және бүйрек құрылымының өзгеруі. Зерттеу нәтижелері бойынша клиникаға түскен 1550 жануардың 203-інен (13,1%) созылмалы бүйрек аурулары анықталды. Аурудың үдеген кезеңіндегі жануарларда мочевина деңгейі 59,28 ммоль/л-ге, ал креатинин деңгейі 612,53 мкмоль/л-ге жетіп, бұл көрсеткіштер нормадан айтарлықтай жоғары екенін және бүйрек қызметінің бұзылғанын көрсетеді. Морфологиялық тұрғыдан бұл жануарларда сол жақ