

Абубакирова А.А., Булабаева Э.Ж., Абилдаева Р.А.

**ПОЛУЧЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ
ИЗ ОТХОДОВ МОЛОЧНОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Приведены результаты исследований использования молочной сыворотки в молочном производстве с использованием безотходной технологии, а так же определены оптимальные условия использования молочной сыворотки в производстве лактулозы.

Abubakirova A.A., Bulabayeva E.Zh., Abildayeva R.A.

**BASIS OF TECHNOLOGY OF NEW BIOTECHNOLOGY
RECEPTION FROM WASTES OF DAIRY**

Given results of investigations for apply nonwaste technology in the dairy production, as well as the use of milk serum as a raw material in the manufacture of lactulose, which was the most optimal.

УДК 619:578.835.1

А.И. Боронбаева

*Кыргызский научно-исследовательский институт ветеринарии им. А. Дуйшеева
г. Бишкек, Кыргызская Республика*

**АДАПТАЦИЯ ВИРУСА ЯЩУРА, ВЫДЕЛЕННОГО В ЧУЙСКОЙ ОБЛАСТИ,
НА РАЗЛИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК**

Аннотация

Ящур – высококонтагиозная болезнь парнокопытных животных, к нему восприимчивы практически все виды сельскохозяйственных животных. Вирус ящура распространен по всему миру, в Кыргызстане он регистрируется в форме эпизоотий практически ежегодно. Для адаптации вируса ящура наиболее оптимальной средой является культура клеток ВНК-21. Интенсивность роста вируса и цитопатическое действие на культуре ВНК-21 значительно выше в сравнение с культурой ПК (почки козленка).

Ключевые слова: вирус ящура, культура клеток, адаптация, цитопатическое действие.

Введение

Ящур – остро протекающая, высококонтагиозная болезнь парнокопытных, с клиническими проявлениями в форме лихорадки, везикулярным поражением слизистых оболочек рта, кожи венчика и вымени. У молодых животных в результате переболевания поражается миокард и скелетные мышцы. Ящур относится к наиболее опасным заболеваниям главным образом потому, что он чрезвычайно контагиозен для большого числа видов сельскохозяйственных животных. Наиболее восприимчивы к ящуру крупный рогатый скот, свиньи, овцы, козы, а также северные олени.

Вирус ящура распространен по всему миру, способен наносить экономике стран значительный ущерб. Ликвидация ящура в масштабах отдельно взятой страны не может гарантировать в последующем ее длительное благополучие. [5]

Вирус относится к роду афтовирюсов (Aphtovirus) семейства пикорнавирусов (Picornaviridae). Величина вириона 20-30 нм, содержит РНК, хорошо сохраняется при

высушивании и замораживании. По иммунобиологическим свойствам подразделяется на 7 типов вируса (А, О, С, САТ1, САТ2, САТ3, Азия-1) и большое количество подтипов. [2]

Жизнедеятельность вируса ящура можно поддерживать серийными пассажами на естественно-восприимчивых животных (КРС, свиньях, овцах, козах). Однако данный метод высокзатратный и связан с опасностью выноса вируса за пределы учреждения. Поэтому чаще в лабораторных условиях стандартные и полевые штаммы вируса поддерживают на морских свинках, белых мышатах-сосунах, крольчатах и культуре ткани. [3, 4]

Культура клеток представляет собой гомогенную популяцию генетически однородных клеток, растущих в постоянных условиях. Мы можем изменять эти условия в определенных пределах, и оценивать влияние на рост клеток самых различных факторов – рН, температуры, концентрации аминокислот, витаминов и т.п. Рост может быть оценен в течение определенного периода времени либо по увеличению числа или размера клеток.

Наиболее чувствительной к вирусу культура клеток первично-трипсинизированной почки коровы, овцы, свиньи и перевиваемой линии ВНК-21. В культуре клеток ВНК-21/13-02 вирус ящура накапливается в количестве 7,01 г ТЦД_{50/мл}, при содержании иммуногенного компонента до 1 мкг/мл. ЦПД проявляется через 6ч и достигает максимума через 18-24ч после заражения. Патологические изменения клеток сопровождаются нарушением межклеточных связей, конденсацией субстрата цитоплазмы, округлением клеток и распадом цитоплазмы. Вирус размножается в цитоплазме. В ядрах происходит укрупнение глыбок хроматина, расположение его вдоль ядерной мембраны, а затем пикноз или рексис ядра. ЦПД вируса ящура развивается без образования включений и симпластов. Вирус ящура относится к вирусам с коротким циклом репродукции, поэтому клеточный монослой быстро разрушается и обычно через 24ч клетки отторгаются от стекла. [1]

Целью данной работы было изучить, как адаптируется вирус ящура к культуре клеток ВНК-21 и ПК (почки козленка). Знание биологических свойств вируса поможет в конструировании противоящурных препаратов.

Материалы и методы

- вирусный материал – вирус ящура типа А, выделенный в неблагополучных по ящуру хозяйствах Чуйской области;
- матрасы со сплошным клеточным монослоем ВНК-21 и ПК;
- реактивы – спирт этиловый, наборы среды Игла, солевой раствор Хенкса, пенициллин, поддерживающая среда;
- оборудование – бокс, морозильник, спиртовка, дозатор, термостат 37°C.

Для заражения клеток отбираломатрасы со сплошным клеточным монослоем (Фото 1.). Ростовую питательную среду сливали, клетки 1-2 раза промывали раствором Хенкса, чтобы удалить сывороточные антитела и ингибиторы.

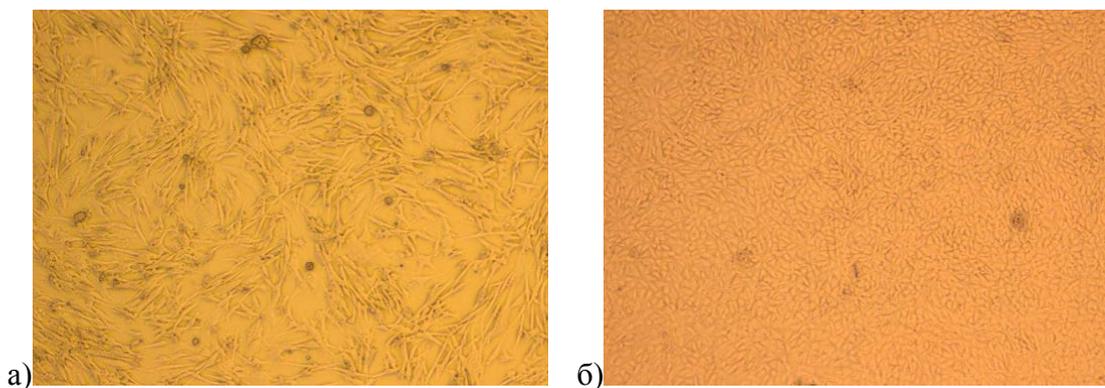


Фото 1. Матрас со сплошным клеточным монослоем ВНК-21 и ПК

В матрасы вносили 150мкл вирусосодержащего материала (вирус ящура типа А выделенный в Чуйской области) и покачиванием распределяли его равномерно по слою клеток. В таком виде матрасы оставляли на 1ч при 37°С для адсорбции вируса на поверхности клеток. Затем вирусосодержащий материал удаляли из матраса и ввели поддерживающую среду. Матрасы закрыли герметичной резиновой пробкой и ставили на инкубацию в термостат при 37°С, в горизонтальном положении.

Зараженный матрас ежедневно исследовали под электронным микроскопом на происходящие процессы.

Результаты исследования

Технология культивирования вируса ящура на культуре клеток состоит в следующем. В зараженном матрасе адсорбировавшиеся на клетках вирусные частицы проникают внутрь их, и начинается их репродукция. Новые вирусные частицы покидают (полностью или частично) клетки, в которых они образовались, проникают в непоражённые клетки, репродуцируются в них, переходят в новые клетки и поражают их. Так продолжается до тех пор, пока есть живые неповрежденные клетки. В результате происходящего процесса практически основная масса клеток в матрасе поражается вирусом.

На фото 2 отображены результаты индикации вируса в культуре клеток которые оказались неодинаковы по цитопатическому эффекту или цитопатическому действию (ЦПЭ, ЦПД) (Фото 2). О размножении вируса в культуре клеток судят по цитопатическому эффекту или цитопатическому действию. Цитопатическое действие - это любые изменения клеток в культуре клеток под влиянием размножающегося в них вируса. Физиологические изменения клеток установить довольно сложно, а морфологические изменения обнаруживаются довольно легко. Для этого достаточно использовать электронный микроскоп и осмотреть монослой в матрасе. Полезно сравнить клетки, зараженные вирусом, с такими же клетками в матрасе, не подвергающиеся заражению. В этом случае практически любые наблюдаемые в микроскопе отличия зараженной культуры клеток от контрольной можно считать проявлением ЦПД. Эти отличия могут захватывать весь монослой или отмечаться только в виде небольших очажков изменённых клеток в слое нормальных клеток. Интенсивность ЦПД выражается тем, какая часть клеточного монослоя изменена вирусом. ЦПД часто оценивают в крестах или баллах. Вирус ящура проявил ЦПД через 1-2 суток после заражения монослоя.

В наших экспериментах как видно, клетки становятся более вытянутые, их контуры более четкие, но монослой сохраняется. (Фото 2.)

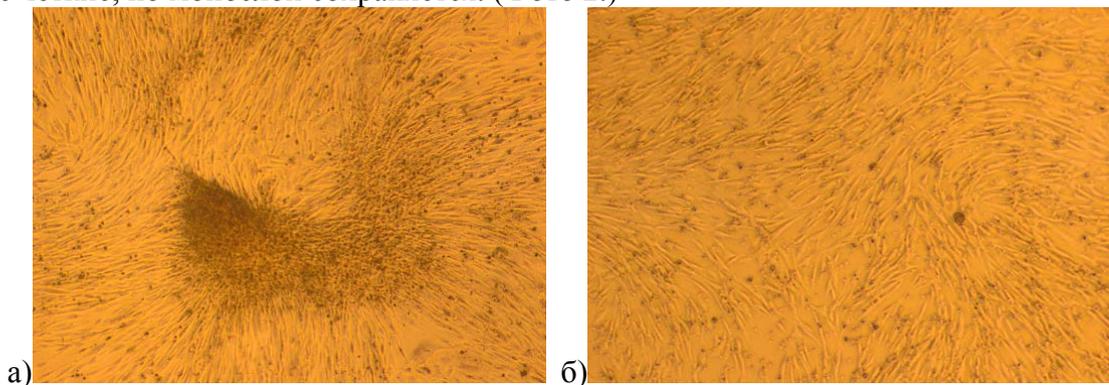


Фото 2. Матрасы ВНК-21 и ПК на 2-й день после заражения вирусом ящура
На четвертый день после заражения видно, как образовались гигантские синцитиальные, многослойные скопления клеток, содержащие по 1000 ядер (Фото 3.).

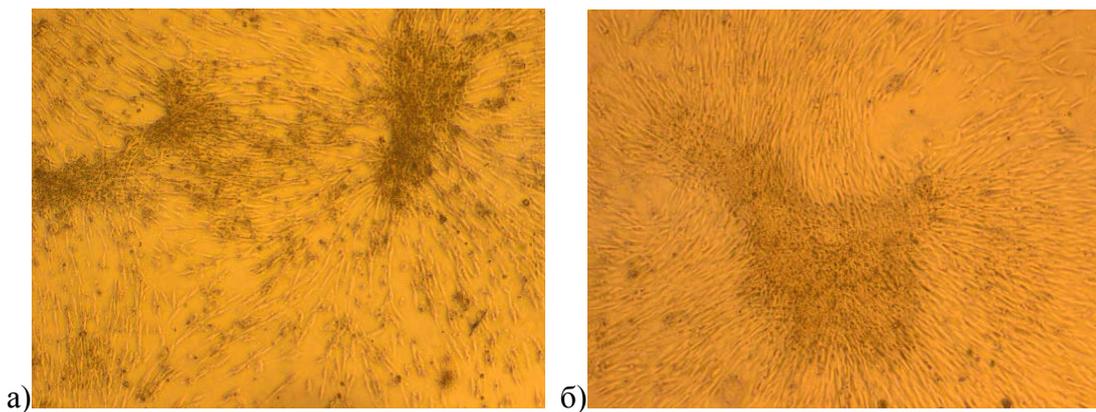


Фото 3. Матрасы ВНК-21 и ПК на 4-й день после заражения вирусом ящура

На шестой день наблюдения, очевидно что, клетки истощены, нарушается целостность клеточного монослоя. В некоторых местах клетки повреждены и отслаиваются от стекла. (Фото 4.)

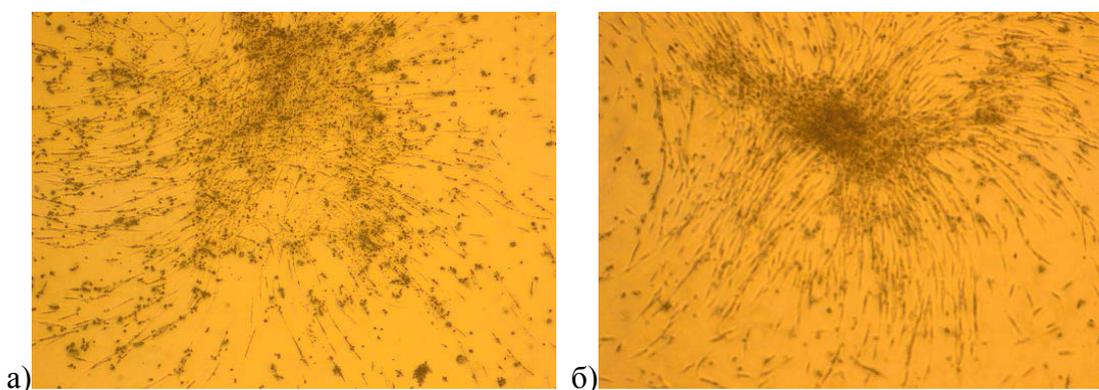


Фото 4. Матрасы ВНК-21 и ПК на 6-й день после заражения вирусом ящура
 а) - ВНК-21
 б) - ПК

Таблица 1. Оценка интенсивности цитопатического действия

ЦПД	Дни наблюдения					
	2-й день	в %	4-й день	в %	6-й день	в %
Матрас ВНК-21	++	20%	+++	40%	+++	70%
Почки козлёнка	+	10%	++	20%	+++	70%

$\frac{3}{4}$ - три плюса,

$\frac{1}{2}$ - два плюса,

$\frac{1}{4}$ - один плюс

Как видно по фотографиям на 2-й день заражения в матрасе ВНК-21 (ЦПД - 20%) по сравнению с матрасом ПК (ЦПД - 10%) на второй день заражения ЦПД проявляется интенсивнее, на четвертый день ЦПД в матрасе ВНК-21 составило 40% всего матраса, когда в ПК составило всего 20%, а на шестой день ЦПД в матрасах ВНК-21 и ПК было одинаково и составило примерно 70%. По нашим наблюдениям вирус ящура в матрасе ВНК-21 заражает клетки быстрее, чем в матрасе ПК.

Выводы

Таким образом, вирус ящура активнее адаптируется на культуре клеток ВНК-21 по сравнению с культурой ПК. И как показали наши наблюдения, цитопатическое действие

вируса ящура на ВНК-21 более активное. Данная культура клеток более всего подходит для культивирования вируса ящура.

Литературы

1. Л.П. Дьяконов, В.Ф. Глухов, А.А. Поздняков, Г.Ф. Денисенко, Т.П. Калмыкова//Культивирование клеток и тканей животных//Учебно-методическое пособие – Ставрополь, 1986.
2. Н.И. Троценко, Р.В. Белоусова, Э.А. Преображенская//Практикум по ветеринарной вирусологии - Москва, 1989.
3. В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьёв, Н.В. Фомина//Вирусные болезни животных – Москва, 1998.
4. З. Лярски//Диагностика вирусных болезней животных – Москва, 1980. А.П. Пономарев, В.Л. Узюмов, К.Н. Груздев // Вирус ящура. Владимир, 2006.
5. Т.Б. Белеков // Ящур сельскохозяйственных животных / Т.Б. Белеков, Д.Р. Раимбеков, Г.А. Искембаева (Методическое руководство). – Бишкек. Алтын-Тамга, 2001.

А.И. Боронбаева

ШУ ОБЛЫСЫНДА ӘР ТҮРЛІ ЖАСУША ДАҚЫЛДАРЫНДА БӨЛІНІП АЛЫНҒАН АУСЫЛ ВИРУСЫНЫҢ БЕЙІМДЕЛУІ

Аусыл вирусының бейімделуіне ВНК-21 жасуша дақылдарының ортасы ең қолайлы орта болып табылады. ВНК-21 дақылдарында лақ бүйрегінің (ЛБ) дақылдарымен салыстырғанда вирустың өсу белсенділігі және цитопатогенді әсері өте жоғары екені анықталды.

Түйін сөздер: аусыл вирусы, жасуша дақылдары, бейімделуі, цитопатогенді әсері.

A.I. Boronbaeva

ADAPTATION OF THE VIRUS OF THE FOOT-AND-MOUTH DISEASE ALLOCATED IN CHUYSKY AREA ON VARIOUS CULTURES OF CAGES

For adaptation of the FMD virus in the most optimal environment is a cell culture ВНК-21. The growth rate of the virus and cytopathic effect on the culture ВНК-21 is much higher in comparison with the primary trypsinized culture kidneys of a goat (kidney goat).

Keywords: a virus of FMD, culture of cages, adaptation, cytopathic action

УДК 599.735.31

Н.О. Коржикенова, А.А. Самбетбаев

Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПОДКОРМКИ В РАЦИОНАХ МАРАЛОВ РОГАЧЕЙ

Аннотация

В статье обосновывается эффективность применения минерально-солевого брикета в разноструктурных рационах маралов при парковом содержании. Показано положительное