

Литература. 1. Алтухов, Н. М. Продуктивность свиней и качество мяса при применении селеноорганического препарата ДАФС-25 / Н. М. Алтухов, И. В. Головина // Свиноводство. - 2002. - № 2. - С. 15–16. 2. Методы исследования мяса и мясных продуктов : учебник / Л. В. Антипова [и др.]. - Москва : Колос, 2001. - 376 с. 3. Папазян, Т. Селен в кормах сельскохозяйственной птицы / Т. Папазян, Н. Голубкина // Птицеводство. – 2008. - № 10. – С. 45-46. 4. Распространение биоэлементозов животных в хозяйствах республики и эффективность применения отечественных препаратов на основе биологически активных веществ / М. П. Кучинский [и др.] // Экология и животный мир. - 2009. - № 2. - С. 28-36. 5. Gilbert, S. G. Neurobehavioral Effects of Developmental Methylmercury Exposure / S. G. Gilbert, K. S. Grantwebster // Environmental Health Perspectives. – 1995. – Vol. 103. – P. 135–142. 6. Reduction of mercury loss in fluorescent lamps coated with thin metaloxide films / V. D. Hildenbrand, C. J. M. Denissen, A. J. H. P. Van der Pol [et al.] // Journal of the Electrochemical Society. – 2003. – Vol. 150. – P. 147–155. 7. ГОСТ 7702.0-74 «Мясо птицы. Методы отбора образцов. Органолептические методы оценки качества». 8. ГОСТ 7702.1-74 «Мясо птицы. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса». 9. ГОСТ 7702.2.0 - 95 «Мясо птицы, субпродукты, полуфабрикаты птицы. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям». 10. ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов». 11. ГОСТ 23392-78 «Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести образцов и органолептические методы определения свежести». 12. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарных специальностям / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с.

УДК 665.944.549.2

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНОЙ СУСПЕНЗИИ СОСНОВОЙ ЖИВИЦЫ

*Красочко П.А., *Мороз Д.Н., **Борисовец Д.С., **Зуйкевич Т.А.,
*Понаськов М.А.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

**РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск, Республика Беларусь

Введение. При современном ведении животноводства имеется большая проблема заболеваний молодняка животных, особенно инфекционных. В этиологической структуре данных болезней ведущую роль играют вирусы – возбудителей инфекционного ринотрахеита, парагрипп-3, вирус диареи, респираторно-синтициальный вирус, рота- и коронавирусы и т.д. Вирус инфекционного ринотрахеита и диареи наиболее чаще поражают новорожденных телят вызывая поражения желудочно-кишечного тракта, органы дыхания поражаются у телят старше 1-месячного возраста, репродуктивная система поражается у взрослых животных [2, 5, 7, 8].

На территории СНГ, в том числе в Республике Беларусь, повсеместное распространение получила сосна обыкновенная *Pinus Silvestris L.*

Сосна обыкновенная это вид голосеменных хвойных растений сем. сосновых. Однодомные вечнозелёные с широко конусовидной кроной и мощной корневой системой дерева. Одна из самых светлюбивых древесных пород. В оптимальных

условиях произрастания может достигать 40–45 м высоты и 1–1,2 м в диаметре [1, 6, 10, 11].

Одной из официально разрешенных форм лесопользования является заготовка живицы.

На территории Российской империи подсечку сосен с целью заготовки и переработки живицы начали еще в XVIII в. в Вельском округе Вологодского наместничества [1]. По данным ФАО ежегодный мировой объем добычи живицы составляет около 1 млн. т в год. В Республике Беларусь ежегодно заготавливается свыше 7 тыс. т живицы. Сосновая живица имеет уникальный химический состав, в нее входят витамины (А, группы В, С, D, Е, К, РР), микро- и макроэлементы (ванадий, железо, йод, калий, кальций, каротин, кобальт, кремний, марганец, медь, молибден, никель, фосфор, цинк), сложные смоляные эфиры, жирные кислоты и янтарная кислота [3].

Полноценную переработку сосновой живицы на территории Беларуси осуществляет завод «Лесохимик» (г. Борисов).

Сейчас сосновая живица используется чаще всего для получения скипидара и канифоли, которые находят применение во многих отраслях народного хозяйства.

Но с древности было известно об уникальных целебных свойствах живицы. Так сосновая смола используется в официальной и народной медицине для предупреждения и лечения воспалительных процессов дыхательных путей, цинги, ревматизма, подагры, ангины, гайморита, гнойных ран, нарывов и чесотки, выведения вшей и др. [1, 10, 11].

В настоящее время проводится большая работа по поиску новых источников противовирусных, антибактериальных и биоцидных средств природного происхождения. Установлено, что такими свойствами облают прополиса, серебро, живица, чага и т.д. [3, 4, 10].

В процессе работы разработана технология изготовления водной суспензии сосновой живицы, которую получают путем экстракции с использованием гидрофильных растворителей при воздействии ультразвука различной мощности и частоты. Одним из показателей биологических свойств водной суспензии живицы является оценка вирулицидной активности.

Целью исследований являлось изучение противовирусной активности водной суспензии сосновой живицы.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» в соответствии с Методическими рекомендациями «Исследование вирулицидных свойств дезинфицирующих и антисептических препаратов» 04.04.96 г. № 67-9610.

В качестве тест-вируса использован вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС). Вирус ТГС (семейство *Coronaviridae*, род *Coronavirus*) – РНК-содержащий вирус, относится к группе альфа-коронавирусов, представлен 1-нитевой РНК. Использован штамм «КМИЭВ-10», депонированный в коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Вирус поддерживали в серийных пассажах и титровали на перевиваемой культуре клеток почки эмбриона свиньи СПЭВ. Цитопатическое действие (ЦПД) вируса ТГС проявляется не ранее, чем через 24 часа и характеризуется в начальной стадии появлением мелкозернистой инфильтрации, а затем клетки отторгаются от стекла, оставляя только сеть зернистого материала.

В работе использовали перевиваемую линию клеток почки эмбриона свиньи СПЭВ, депонированную в коллекции культур клеток РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Клетки культивировали в

ростовой питательной среде, представляющей собой среду Игла и среду 199 в соотношении 1:1 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2мМ L-глутамин и антибиотиков (100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина). Поддерживающая питательная среда содержала все указанные выше ингредиенты и 2% эмбриональной телячьей сыворотки.

Для приготовления монослоя клеток в плоскодонных 96-луночных планшетах использовали суспензию культуры клеток линий СПЭВ в концентрации 300 тыс. клеток/мл. В лунки плоскодонных 96-луночных планшетов 8-канальной пипеткой вносили по 100 мкл поддерживающей питательной среды, а затем в те же лунки – суспензию клеток СПЭВ (по 100 мкл в каждую). Планшеты с культурами клеток инкубировали в течение 48 ч в термостате при температуре плюс (37±0,5)°С в атмосфере с объемной долей углекислого газа (5,0±0,5)% и относительной влажностью (75±5)% до формирования в лунках планшет сплошного монослоя, включающего только типичные клетки.

На первом этапе готовили разведения водной суспензии живицы на поддерживающей среде от 10⁻¹ до 10⁻¹². Затем вирусодержащую суспензию (титр вируса – 100 ТЦД) и водорастворимую суспензия бересты в различных концентрациях объединяли в соотношении 1:1 и выдерживали 1 час в термостате при 37° С для контакта вируса с образцом препарата.

После этого смесь вносили на монослой клеток в объеме по 0,1 мл на лунку (по 4 лунки на каждое разведение). Затем в культуральные планшеты вносили по 0,1 мл поддерживающей питательной среды.

Планшеты помещали в СО₂-инкубатор и инкубировали при 5% СО₂ и температуре (37,0±1,0)°С.

В качестве положительного контроля вместо водной суспензии сосновой живицы использовали 0,7%-ный раствор формальдегида; в качестве отрицательного контроля вирусодержащую суспензию объединяли в соотношении 1:1 с поддерживающей питательной средой.

Инфекционность вируса ТГС определяли по способности к цитопатическому действию (ЦПД). Монослойную культуру клеток СПЭВ отмывали от ростовой среды раствором Хэнкса. После этого в поддерживающей питательной среде готовили 10-кратные разведения вирусодержащего материала, обработанного каждым образцом препарата, от 10⁻¹ до 10⁻¹² и вносили на монослой клеток в объеме по 0,1 мл на лунку (по 4 лунки на каждое разведение). Затем в культуральные планшеты вносили по 0,1 мл поддерживающей питательной среды.

Результаты исследований. Учет реакции проводили путем микроскопирования монослоя клеток спустя 1 сутки после постановки реакции и далее ежедневно с целью определения цитопатических изменений в клетках. Окончательный учет проводили на 4-й день инкубации.

Таблица 1 - Противовирусная активность водной суспензии сосновой живицы в отношении вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС)

Разведение водной суспензии сосновой живицы	Реакция задержки ЦПД
10 ⁻¹	####
10 ⁻²	####
10 ⁻³	+
10 ⁻⁴	+
10 ⁻⁵	++++
10 ⁻⁶	++++
10 ⁻⁷	++++
10 ⁻⁸	++++

10^{-9}	++++
10^{-10}	++++
10^{-11}	++++
10^{-12}	++++

Примечания: ##### - задержка ЦПД;

+ и ++ начальная стадия ЦПД;

++++ - ЦПД во всех лунках.

В результате проведенных исследований по оценке противовирусной активности водной суспензии сосновой живицы на культуре клеток МДБК в отношении вируса ТГС было установлено, что угнетение репродукции вируса под воздействием водной суспензии сосновой живицы наблюдалась в разведении 10^{-3} через 96 час инкубации. В разведении прополиса 10^{-1} – 10^{-2} через 96 часов цитопатического действия вируса ТГС не наблюдалось.

В контроле вируса при концентрации 100 ТЦД50/0,1 см³ отмечено проявление характерных изменений с полной деструкцией монослоя через XX часов, при концентрации 10 ТЦД50 /0,1 см³ поражение монослоя выявилось у 50% инфицированных лунок через XX часов, а 100% – через XX часа. В более низкой концентрации вируса (1–0,1 ЦПД ТЦД50 /0,1 см³) выявлялось через XX часов в 25% лунок, и через XX часа – в 25–50% лунок.

Заключение. Полученные результаты позволяют рекомендовать водную суспензию сосновой живицы для конструирования противовирусных препаратов.

Литература. 1. Горкин, А. И. О возможности переработки сосновой живицы на местах ее заготовки / А. И. Горкин // Лесной журнал. – 2019. – № 1. – С. 96–105. 2. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания: монография / А. А. Шевченко [и др.]; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар: КубГАУ, 2018. – 484 с. 3. Изучение антибактериальных и биоцидных свойств сосновой живицы / П. А. Красочко [и др.] // Сборник научных трудов КНЦЗВ. – 2021. – Т. 10. – № 1. – С. 24–29. 4. Изучение противовирусной активности водорастворимой формы прополиса / П. А. Красочко [и др.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2019. – № 35. – С. 71–80. 5. Красочко, П. А. Роль микрофлоры в возникновении заболеваний у животных и птиц / П. А. Красочко, В. М. Голушко, Е. А. Капитонова // Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства: тезисы докладов международной научно-практической конференции. - РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству», 2008. - С. 292-294. 6. Лекарственные древесные растения на территории Луганского национального аграрного университета / С. Ю. Наумов [и др.]. – 2018. – № 1. – С. 35-43. 7. Машеро, В. А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь / В. А. Машеро, П. А. Красочко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». - 2007. - Т. 43, вып. 2. - С. 83-86. 8. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных: учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1 – 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарных специальностям / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2020. – 64 с. 10. Пашкова, Т. В. Целительные свойства деревьев в лечебной практике карел (опыт обобщения материала) / Т. В. Пашкова // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. – 2015. – № 3 (148). – С. 77-83. 11. Усовершенствованная схема комплексной переработки сосновой живицы *Pinus Silvestris L* / А. Ю. Ключев [и др.] // Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. - 2014. – № 4 (168). – С. 168–173.