

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ВРАЧ

№ 3 2026

THE VETERINARIAN

ISSN 1998-698X
DOI: 10.33632/1998-698X

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ
RESEARCH & INDUSTRIAL JOURNAL



ЖУРНАЛ ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛОВ ОТ ПРОФЕССИОНАЛОВ

В Федеральном центре токсикологической, радиационной и биологической безопасности разработана и выпускается ассоциированная вакцина против инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота

Инфекционный кератоконъюнктивит крупного рогатого скота

— острое контагиозное заболевание, характеризующееся слезотечением, гиперемией сосудов конъюнктивы, светобоязнью, серозно-гнойным истечением, помутнением и изъязвлением роговицы, деформацией глазного яблока в виде кератоглобула или кератоконуса, частичной или полной потерей зрения пораженного глаза животного.

Экономический ущерб от заболевания складывается из:

- потерь молочной продуктивности;
- потерь от снижения привесов;
- снижения племенной ценности;
- затрат на лечебные мероприятия.

Применение данной вакцины обеспечивает надежную защиту от заболеваемости (95-97%).

АНАЛОГОВ ВАКЦИНЫ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ НЕТ

С профилактической целью вакцину вводят двукратно, в дозах:

- телятам до 6 мес. — 3 см³;
- молодняку до 12 мес. — 5 см³;
- молодняку старше 1 года и коровам — 10 см³.



СОДЕРЖАНИЕ

Верен себе: к 70-летию профессора Василевского Н. М.	5
ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ	
Гиззатуллин Р. Р., Гиззатуллина Р. Р., Равилов Р. Х., Садыков Н. Ф., Трубкин А. И., Булатова Э. Н. Определение хронической токсичности и местного раздражающего действия на животных нового противопаразитарного соединения «С-4»	7
Мишина Н. Н., Софронова А. В., Ерохондина М. А., Идрисова Э. И., Валиев А. Р., Хасиятуллин А. Ф., Губеева Е. Г. Гистоструктура внутренних органов белых крыс при смешанном микотоксикозе на фоне применения антитоксической сыворотки	14
Рахматуллин Э. К., Кадиков И. Р., Сагдеев Д. Р., Майорова Е. Н., Куршакова Е. И., Николаев Н. В., Закиров Т. М. Изучение хронической токсичности пиретроидного препарата с циперметрином	22
Тарасова Е. Ю., Танасева С. А., Матросова Л. Е., Валиев А. Р., Кашеваров Г. С., Семёнов Э. И. Органометрические показатели печени цыплят-бройлеров при микотоксикозе на фоне применения профилактических комплексов	29
САНИТАРИЯ, ГИГИЕНА, ЭКОЛОГИЯ, ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ	
Мухарлямова А. З., Мухамметшина А. Г., Ишкаев К. М., Сайфутдинов А. М., Сагдеев Э. А., Буркин К. Е., Мохтарова С. Л. Оценка способов экстракции при определении фипронила в подморе медоносных пчёл	35
ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ	
Бангура М., Супова А. В., Шастин П. Н., Капустин А. В., Толпыгин М. А. Эффективность экспериментальной инактивированной вакцины против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец в условиях Гвинейской Республики (Мусая)	42
Галеева А. Г., Кузнецова Ю. А., Ахунова А. Р., Алеева З. З., Хаммадов Н. И., Ахмадеев Р. М., Ефимова М. А. Особенности продукции рекомбинантных аналогов иммунодоминантных антигенов вируса бешенства в прокариотической системе экспрессии	52
Галиуллин А. К., Волков Р. А., Магдеева Э. А., Семёнова С. А., Красовская Ю. В., Шаева А. Ю. Ретроспективный анализ антимикробных свойств прополиса	61
Осянин К. А., Горбунова М. Е., Яруллин А. И., Додонова Е. А., Шангараев Р. И., Сальманова Г. Р., Усольцев К. В. Видоспецифичная праймерная система для индикации возбудителя нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом ПЦР-РВ	68
Сальманова Г. Р., Хаммадов Н. И., Шангараев Р. И., Додонова Е. А., Хамидуллина А. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е. Разработка синтетического пептида на основе иммуногенных эпитопов антигена GP38 для индикации антител против вируса артрита-энцефалита коз	75
Хамидуллина А. И., Хаммадов Н. И., Шангараев Р. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е., Сальманова Г. Р., Хамидуллина Р. З. Подбор генетических маркеров для ПЦР-индикации <i>Yersinia ruckeri</i>	82

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

- Василевич Ф. И., Вишневская А. Ю., Бурмистрова М. И.** Патологическое влияние *Trichinella spiralis* на организм нутрий 89
- Индюхова Е. Н.** Особенности клеточно-молекулярных механизмов восстановления организма 9-месячных яичных кур после дерманиссиоза при применении препарата «Д-цифенотрин комбо» 96
- Шагров В. А., Багамаев Б. М.** Сравнительная эффективность ваннных обработок акарицидами на основе диазинона и дельтаметрина при псороптозе овец в условиях Ставропольского края 104
- Шангараев Р. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е., Осянин К. А., Хамидуллина А. И., Сальманова Г. Р., Хаертынов К. С.** Подбор высокоспецифичных генетических локусов для ПЦР-РВ-индикации *Babesia divergens* 110

БИОТЕХНОЛОГИЯ

- Валиуллина Г. Р., Галиуллин А. К., Спиридонов Г. Н., Махмутов А. Ф., Дуплева Л. Ш., Габбасов З. Р., Закиров Т. М.** Культивирование и идентификация штаммов *Clostridium septicum* 116

ВЕРЕН СЕБЕ: К 70-ЛЕТИЮ ПРОФЕССОРА ВАСИЛЕВСКОГО Н. М.



Василевскому Николаю Михайловичу, доктору ветеринарных наук, профессору, заслуженному деятелю науки Республики Татарстан, почетному работнику высшего профессионального образования Российской Федерации 19 мая 2026 г исполнилось 70 лет!

Н. М. Василевский - специалист с признанным авторитетом в сфере организации ветеринарного дела, токсикологической, радиационной и биологической безопасности. Его разработки и научные достижения внедрены в практическую ветеринарию и учебный процесс при подготовке ветеринарных специалистов, включены в учебники и учебные пособия для высших учебных заведений, методические рекомендации.

Научно-педагогическая деятельность стала призванием Н. М. Василевского: он избрал этот путь сразу после выпуска из Казанского государственного ордена Ленина ветеринарного института имени Н. Э. Баумана в 1979 году и следовал ему на протяжении

всей жизни: научный сотрудник, аспирант отдела (1979 – 1984), преподаватель, старший преподаватель, доцент, профессор кафедры организации и экономики ветеринарного дела, заместитель декана, декан факультета ветеринарной медицины (1984 – 1999), заведующий кафедрой менеджмента и информационных технологий (1999 – 2011), заведующий кафедрой организации и экономики ветеринарного дела, профессор кафедры эпизоотологии и организации ветеринарного дела Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина (2011–2015), заместитель директора по научной работе и инновационной деятельности, заведующий отделением радиобиологии, главный научный сотрудник отделения токсикологии Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности (2015 - по настоящее время).

Учителями в науке были профессора О.А. Котылев, Н.З. Хазипов, И.Н. Никитин, М.С. Ежкова. Под руководством этих ученых Николай Михайлович вступил на научную стезю. Первую свою научную статью опубликовал по материалам студенческих исследований.

Кандидатскую диссертацию на тему «Взаимодействие макрофагов с бруцеллами различной вирулентности» (работа выполнена в рамках темы государственного заказа (№№ госрегистрации 810810028)) защитил в 1984 г. Ученая степень кандидата ветеринарных наук присуждена 4 июня 1984 г. Проведены исследования по изучению морфологии бруцелл различной вирулентности и взаимодействия их с клетками мононуклеарной системы морских свинок. Впервые проведено электронно-микроскопическое исследование бруцелл вакцинного штамма 82 в сравнительном аспекте с бруцеллами различной вирулентности. Показаны различия в ультраструктуре клеточных стенок и цитоплазме бруцелл в зависимости от штаммовой принадлежности. В результате проведенных исследований изучены особенности взаимодействия бруцелл с клетками культуры перитонеальных макрофагов в динамике, при этом осуществлен детальный анализ ультраструктурной цитопатологии. Выявлены различия в фагоцитабельности бруцелл различных штаммов в зависимости от их вирулентности. Бруцеллы вирулентного штамма фагоцитировались менее активно, по сравнению с бруцеллами вакцинных и авирулентного штаммов. Установлено, что макрофаги от животных, иммунизированных противобруцеллезными вакцинами из штаммов *Brucella abortus* 19 и 82, характеризуются повышенной способностью к фагоцитозу и устойчивостью к цитотоксическим факторам бруцелл вирулентного штамма.

Докторскую диссертацию на тему «Научные основы и результаты совершенствования ветеринарной службы сельского района» защитил в 1996 г. Ученая степень доктора ветеринарных наук присуждена 7 марта 1997 г. Диссертация представляет собой законченное фундаментальное исследование, выполненное по актуальной проблеме и на большом фактическом материале в соответствии с планом научных исследований Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана (№№ госрегистрации 01860030365, 01910052864). Впервые в стране проведено комплексное экспериментальное исследование ветеринарной службы сельского района. Разработаны

научные основы совершенствования и путей повышения эффективности ветеринарного дела в условиях перехода к рыночной экономике. Научно обоснована целесообразность совершенствования организационной структуры ветеринарной службы и создания единого районного ветеринарного органа – районного государственного ветеринарного объединения. Разработан и внедрен комплекс нормативно-методических документов по реализации новых форм организации ветеринарного обслуживания животноводства в административном районе, в том числе коммерческой ветеринарной деятельности. Разработана методика и установлены расценки на ветеринарные услуги в минимальных размерах оплаты труда. Представлен анализ планирования противоэпизоотических мероприятий и уровня их осуществления. Предложена новая методика определения экономической эффективности ветеринарного обслуживания животноводства.

Его научные достижения, педагогическое мастерство и профессионализм сформировали плеяду талантливых сотрудников и учеников. Подготовил десять кандидатов наук. В 2014 г. включен в Реестр аттестованных экспертов в области государственной аккредитации образовательного учреждения и научной организации.

Награжден Почетной Грамотой Департамента кадровой политики и образования Минсельхозпрода России (1998), присвоены звания Заслуженный деятель науки Республики Татарстан (2003), Почетный работник высшего профессионального образования РФ (2006), имеет Благодарность Минсельхозпрода России (2014).

Василевский Н. М. внёс весомый вклад в развитие научно-производственного журнала «Ветеринарный врач», выполняя обязанности главного редактора и являясь членом редакционной коллегии.

Искренне благодарны Николаю Михайловичу за его вклад в развитие нашего Центра. Его стратегическое видение и дальновидность сыграли роль в нашем прогрессе. Особую благодарность вызывает его многогранная деятельность: многочисленные публикации и успешные проекты, которые стали возможны благодаря его энергии и профессионализму. Особо стоит отметить его исключительное наставничество и умение работать с молодыми учёными и студентами, а также уникальную способность трансформировать сложные задачи в чёткие и достижимые цели.

Желаем Вам крепкого здоровья, нескончаемой энергии и вдохновения, чтобы каждый день был наполнен яркими идеями и радостью. Пусть в Вашей семье царят гармония и благополучие, а близкие люди всегда окружают заботой и любовью. Пусть каждый новый год жизни приносит Вам профессиональные достижения, радостные события и незабываемые встречи с дорогими сердцу людьми.



*Коллектив ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
Редакция журнала «Ветеринарный врач»*

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 7 – 13
The Veterinarian. 2026; (3): 7 – 13

Научная статья
УДК 619:616. 99.637.5 (484.47)
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ И МЕСТНОГО РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НА ЖИВОТНЫХ НОВОГО ПРОТИВОПАРАЗИТАРНОГО СОЕДИНЕНИЯ «С-4»

Рамис Разяпович Гиззатуллин, кандидат ветеринарных наук, gizzatullin.1987@bk.ru
Рамия Разяповна Гиззатуллина, кандидат ветеринарных наук, gizzatullina.miya@bk.ru
Рустам Хаметович Равилов, доктор ветеринарных наук, rustam.ravilov@mail.ru
Нияз Фидаилевич Садыков, кандидат биологических наук, niyz-sadikov@mail.ru
Анатолий Иванович Трубкин, кандидат ветеринарных наук, anatoliy_trubkin@mail.ru
Эльвира Наилевна Булатова, кандидат ветеринарных наук, elevirab@mail.ru

Казанский государственный аграрный университет
Институт «Казанская академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», Казань, Российская
Федерация

Автор, ответственный за переписку: Рамис Разяпович Гиззатуллин.

Аннотация. Для изучения долгосрочного воздействия нового лекарственного средства на организм животных были проведены эксперименты с участием 30 белых крыс массой от 200 до 220 граммов. Животных разделили на три группы по 10 особей, чтобы обеспечить сопоставимость результатов. В рамках исследований оценивали хроническую токсичность лекарственного средства «С-4» при применении в трех разных дозировках. В течение шести дней крысам ежедневно вводили водный раствор соединения непосредственно в желудок. Дозы подбирались исходя из предварительных данных об острой токсичности, где ЛД₅₀ составляла 5000 мг/кг. Первая группа получала 500 мг/кг, что составляет одну десятую от максимальной безопасной дозы, вторая - 250 мг/кг, то есть половину первой дозы. Объем вводимого раствора для всех животных был одинаковым - 3 мл. Контрольная группа получала только дистиллированную воду для сравнения. Во всех группах проводили забор крови для гематологического анализа. Кроме того, раздражающее воздействие лекарственного средства на кожу и слизистые оболочки глаз оценивали на кроликах и овцах с использованием растворов концентрацией 0,5 %, 1 %, 5 % и 10 %. Полученные данные показали, что многократное введение доз 250 и 500 мг/кг вызывали изменения в органах животных, а именно снижение количества эритроцитов, лейкоцитов, моноцитов, лимфоцитов и уровня гемоглобина, а также повышение числа тромбоцитов и сегментоядерных нейтрофилов. При этом раздражающего эффекта соединения «С-4» в указанных концентрациях на кожу и слизистые оболочки глаз не наблюдались.

Ключевые слова: хроническая токсичность, крысы, кролики, овцы, раздражающие свойства, кожа, глаза, «С-4»

Для цитирования: Гиззатуллин Р. Р., Гиззатуллина Р. Р., Равилов Р. Х., Садыков Н. Ф., Трубкин А. И., Булатова Э. Н. Определение хронической токсичности и местного раздражающего действия на животных нового противопаразитарного соединения «С-4» // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 7 – 13. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_7

DETERMINATION OF CHRONIC TOXICITY AND LOCAL IRRITATIVE EFFECTS OF THE NEW ANTI-PARASITIC COMPOUND "C-4" ON ANIMALS

Ramis R. Gizzatullin, Candidate of Veterinary Sciences, gizzatullin.1987@bk.ru
Ramiya R. Gizzatullina, Candidate of Veterinary Sciences, gizzatullina.miya@bk.ru
Rustam Kh. Ravilov, Doctor of Veterinary Sciences, rustam.ravilov@mail.ru
Niyaz F. Sadykov, Candidate of Biological Sciences, niyz-sadikov@mail.ru
Anatoly I. Trubkin, Candidate of Veterinary Sciences, anatoliy_trubkin@mail.ru

Elvira N. Bulatova, Candidate of Veterinary Sciences, *elevirab@mail.ru*

Kazan State Agrarian University N.E. Bauman Institute of Kazan Academy of Veterinary Medicine, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Ramis Razyapovich Gizzattullin.

Abstract. Abstract. To study the long-term effects of a new drug on the body, experiments were conducted using 30 white rats weighing between 200 and 220 grams. The animals were divided into three groups of 10 to ensure comparable results. The study evaluated the chronic toxicity of the C-4 substance at three different dosages. For six days, the rats were administered an aqueous solution of the drug directly into their stomachs. The doses were selected based on preliminary data on acute toxicity, where the LD50 was 5000 mg/kg. The first group received 500 mg/kg, which is one-tenth of the maximum safe dose, and the second group received 250 mg/kg, which is half of the first dose. The volume of the administered solution was the same for all animals, 3 ml. The control group received only distilled water for comparison. Blood samples were collected from all groups for hematological analysis. In addition, the irritant effect of the drug on the skin and mucous membranes of the eyes was evaluated in rabbits and sheep using solutions with concentrations of 0.5 %, 1 %, 5 %, and 10 %. The data obtained showed that repeated administration of doses of 250 and 500 mg/kg caused changes in the animals' organs, a decrease in the number of red blood cells, leukocytes, monocytes, lymphocytes, and hemoglobin levels, as well as an increase in the number of platelets and segmented neutrophils. In this case, the skin and mucous membranes of the eyes were not irritated by the C-4 solutions at the specified concentrations.

Keywords: Keywords: chronic toxicity, rats, rabbits, sheep, irritating properties, skin, eyes, C-4

Введение. Одним из эффективных резервов повышения продуктивности животных и получения высококачественной, безопасной продукции является снижение и полная ликвидация заразных и незаразных болезней. Гельминты, простейшие и паразитические членистоногие являются основной причиной снижения всех видов продуктивности животных. Тяжелые формы инвазионных заболеваний преимущественно регистрируются на фоне иммунодефицитных состояний при смешанных инвазиях. В организме больных нематодозами и эймериозом животных и птиц происходит интоксикация продуктами обмена паразитов и гнилостной микрофлоры с кровавыми выделениями, что ведет к нарушению функции нервной системы, вызывая угнетение животных и птиц, вплоть до коматозного состояния, тремора мышц и паралича конечностей. Животные и птицы теряют массу тела, мясо переболевших животных имеет низкую питательную ценность и быстро портится при хранении. Одним из широко распространенных протозойных болезней жвачных животных является эймериоз. Это – остро, подостро и хронически протекающие протозойные болезни животных и птиц, вызываемые различными видами простейших, относящихся к подцарству Protozoa и к семейству Eimeriidae. Эймериозы вызываются простейшими, паразитирующими преимущественно в эпителиоцитах слизистой оболочки кишечника. При сильной степени инвазии эймерии могут вызывать массовую гибель животных [1, 8]. Для борьбы с инвазионными болезнями животных применяют различные противопаразитарные препараты, относящиеся к различным классам химических соединений, которые имеют различный состав, лекарственную форму. Они также отличаются по механизму противопаразитарного и токсического действия на организм хозяев [2, 4]. Стоит отметить, что интенсивное применение противопаразитарных препаратов, особенно антигельминтиков, может привести к загрязнению окружающей среды [10, 11]. Поэтому перспективными для применения на производстве, являются противопаразитарные соединения, обладающие также безопасностью для других живых организмов. Для пищевой безопасности важное значение имеет остаточное количество препарата в продукции животного происхождения. При несоблюдении периода ожидания продукт может быть забракован, что наносит ущерб товаропроизводителям. Следовательно, разработка противопаразитарных препаратов, воздействующих на различные звенья патологического процесса при паразитозах, а также детальное изучение токсикологических свойств данных препаратов, внедрение их в практику является актуальной задачей в области ветеринарии [3, 6, 9].

Животноводство занимает ключевое место в структуре агропромышленного комплекса нашей страны. Для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и птиц, а также для получения продукции высокого качества, крайне важно своевременно проводить лечение и профилактику распространённых инвазионных заболеваний, таких как гельминтозы. Паразитарные болезни оказывают комплексное негативное влияние на организм животных: механическое повреждение тканей, нарушение питания за счёт кровососания, интоксикация продуктами жизнедеятельности паразитов,

перенос сопутствующих микроорганизмов, а также аллергические реакции, вызванные метаболитами гельминтов. Все эти факторы приводят к сбоям в работе физиологических систем, что отражается на снижении массы тела и ухудшении качества мясной продукции, которая быстрее портится.

В современной ветеринарной практике основным и наиболее эффективным методом борьбы с гельминтозами остаётся профилактическая и лечебная дегельминтизация. На рынке представлено множество антигельминтных препаратов, однако многие из них обладают определённой токсичностью и могут негативно влиять как на здоровье животных, так и на окружающую среду. В связи с этим одной из приоритетных задач ветеринарной фармакологии и паразитологии является разработка новых противопаразитарных средств, которые были бы доступны, обладали широким спектром действия и при этом имели бы избирательную токсичность, минимально влияя на организм животных и обеспечивая безопасность конечной продукции [5]. Поэтому тщательное изучение безопасности и фармако-токсикологических характеристик новых антигельминтных соединений является важным этапом перед их внедрением в ветеринарную практику. Цель исследования – изучение хронической токсичности и раздражающих свойств нового лекарственного средства «С-4» на лабораторных животных.

Для достижения поставленной цели был сформирован следующий перечень задач:

1. Определить хроническую токсичность и морфологические изменения в крови лабораторных крыс после введения нового лекарственного средства «С-4»;
2. Изучить местное раздражающее действие на кожные покровы и слизистые оболочки глаз нового соединения «С-4» на кроликах и овцах в различных концентрациях.

Материалы и методы. Для исследования противопаразитарного средства в рамках доклинических испытаний было изучено новое лекарственное средство "С-4", представляющее собой порошок горчичного цвета, хорошо растворимый в воде и обладающий противопаразитарными свойствами. Исследования проводились на базе кафедры эпизоотологии, паразитологии и патологической анатомии Казанского государственного аграрного университета.

Для оценки хронической токсичности "С-4" были задействованы 30 нелинейных белых крыс обоего пола, весом 200-220 граммов. Животные содержались в стандартных условиях специализированного вивария, с соблюдением санитарных норм и сбалансированным питанием. Перед началом эксперимента крысы находились на шестичасовой голодной диете.

Животные были разделены на три группы по 10 особей в каждой, с учетом принципа аналогов. Исследование хронической токсичности проводилось с использованием трех различных доз "С-4". Водный раствор соединения вводился внутрижелудочно ежедневно в течение шести дней. Максимальная доза ЛД₅₀, определенная в ходе исследования острой токсичности, составила 5000 мг/кг.

Первая экспериментальная группа получала "С-4" в дозе 500 мг/кг (одна десятая от максимальной допустимой), вторая группа – в дозе 250 мг/кг (одна двадцатая от максимальной). Обеим группам вводилось по 3 мл водного раствора "С-4". Животные контрольной группы получали дистиллированную воду вместо исследуемого вещества.

Все процедуры проводились в соответствии с установленными правилами доклинических испытаний новых лекарственных средств, согласно методическим рекомендациям Р.У. Хабриева (2005). В течение шести дней наблюдения ежедневно фиксировались следующие показатели: общее самочувствие животных, потребление корма и воды, состояние шерсти и кожи, внешний вид слизистых оболочек, а также изменения живой массы. По завершении шестидневного периода часть животных была подвергнута эвтаназии путем декапитации. Проводился макроскопический осмотр трупов и забор крови из яремной вены для гематологического анализа. Исследовались такие показатели, как концентрация эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, уровень гемоглобина и лейкоцитарные формулы. За оставшимися в живых животными продолжалось наблюдение в течение одного месяца.

Для изучения местного раздражающего действия соединения «С-4» на кожные покровы экспериментальных животных. Использовали 8 кроликов породы советская шиншилла средней живой массой 2,8 кг и 4 овец породы романовская массой 55 кг. Изучали воздействие суспензии «С-4» в различных концентрациях 0,5%, 1%, 5% и 10%. Сначала подготовили животных: на правом боку каждого животного выстригли шерсть и протерли кожу спиртом. Это был участок, куда наносили исследуемое вещество «С-4», заранее растворив в дистиллированной воде. Затем в течение минуты осторожно втирали раствор в кожу животных. На левом боку подготовили контрольный участок, куда аналогичным образом наносили обычную дистиллированную воду.

Далее вели наблюдение за животными: сначала в течение трех часов после нанесения, а затем ежедневно на протяжении двух недель. В ходе опыта фиксировали любые изменения на коже: покраснение, отеки, расчесы, появление некроза или язвочек.

Для оценки реакции мы использовали специальную шкалу от 0 до 5:

0 – никаких изменений, кожа выглядит нормально.

1 – кожа стала бледно-розовой.

2 – появилось ярко-розовое покраснение (эритема).

3 – покраснение стало красным.

4 – помимо покраснения, появился отек.

5 – сильное покраснение, выраженный отек, а также язвочки и корочки.

Для оценки раздражающего воздействия соединения «С-4» на слизистую оболочку глаз у животных было проведено комплексное исследование с использованием кроликов и овец. В эксперименте участвовали восемь кроликов породы советская шиншилла с массой около 2,8 кг и четыре овцы романовской породы весом примерно 55 кг.

Для исследования влияния «С-4» на слизистую глаз каждому животному в правый глаз закапывали по две капли раствора, а левый глаз служил контролем и получал дистиллированную воду. Для замедления выведения вещества из глаза на одну минуту прижимали слезно-носовой канал. Наблюдения за состоянием глаз велись сначала в течение трёх часов, затем ежедневно в течение двух недель. Оценка реакции проводилась по стандартной пятибалльной шкале, учитывающей такие параметры, как покраснение конъюнктивы, слезотечение, отёчность тканей, изменение размера зрачка и состояние век. Это позволило получить комплексное представление о возможном раздражающем воздействии соединения «С-4» на слизистую оболочку глаз.

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе изучения длительного воздействия вещества «С-4» на организм животных было выявлено, что при многократном приеме внутрь в дозах 250 и 500 мг/кг на протяжении шести дней смертельных исходов не наблюдалось. В первые часы после введения у крыс отмечались кратковременные поведенческие изменения: повышенная тревожность, учащенное дыхание и стремление собираться в группы. Со временем животные привыкали к процедурам, и эти реакции становились менее выраженными. В целом состояние здоровья всех исследуемых групп оставалось сопоставимым с контрольной группой на протяжении всего эксперимента. Вместе с тем, при максимальной дозе 500 мг/кг наблюдалось заметное замедление роста и снижение массы тела у подопытных. По итогам вскрытия на седьмой день было установлено, что внутренние органы брюшной и грудной полости сохраняли нормальное расположение. Однако многократное введение соединения вызывало определённые изменения: застойную гиперемии слизистых оболочек желудка, кишечника, почек и печени, а также локальные участки зернистой дистрофии в печени, проявлявшиеся в виде темно-вишневого окрашивания небольших участков органа. Результаты морфологических показателей представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Морфологические показатели крови крыс, получавших соединение «С-4» в разных дозах в течение 6 дней

Показатели		Группы животных		
		250 мг/кг	500 мг/кг	Контроль
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$		$8,2 \pm 1,13$	$7,8 \pm 0,22^*$	$10,1 \pm 1,86$
Лейкоциты, $\times 10^9/л$		$13,4 \pm 0,7$	$9,3 \pm 1,21^*$	$14,8 \pm 0,6$
Тромбоциты, $\times 10^9 /л$		$1391 \pm 2,1$	$1427 \pm 4,3^*$	$1095 \pm 3,1$
Гемоглобин, г/л		$163 \pm 0,7$	$158 \pm 2,7$	$169 \pm 2,4$
Гематокрит, %		$53,8 \pm 1,1$	$54,3 \pm 0,8$	$54,9 \pm 0,52$
Лейкоцитарная формула, %	Эозинофилы	$1,1 \pm 0,06$	$0,6 \pm 0,04$	$0,9 \pm 0,03$
	Нейтрофилы п/я	$0,3 \pm 0,008$	$0,6 \pm 0,03$	$0,3 \pm 0,005$
	Нейтрофилы с/я	$24,6 \pm 0,7$	$26,3 \pm 1,4$	$19,7 \pm 0,5$
	Моноциты	$4,5 \pm 0,8$	$3,8 \pm 1,7$	$5,3 \pm 0,3$
	Лимфоциты	$75,9 \pm 2,0$	$72,0 \pm 2,4$	$77,5 \pm 1,8$

Примечание: * - $p \leq 0,05$ по отношению к контрольным значениям

В ходе опыта было выявлено, что у крыс, получавших экспериментальное вещество в дозировке 500 мг/кг, произошли значительные изменения в составе крови. Так, количество эритроцитов снизилось примерно на четверть, что подтверждается статистической значимостью ($p \leq 0,05$). Аналогично, число лейкоцитов уменьшилось почти на 37,1%, что также является достоверным показателем влияния лекарственного средства. Кроме того, наблюдалось сокращение моноцитов почти на 28,3% и

незначительное снижение лимфоцитов на 7,09%. Уровень гемоглобина в крови этих животных уменьшился на 6,5%. В то же время, в отличие от других клеточных элементов, количество тромбоцитов увеличилось более чем на 30,3%, что также было статистически значимым. Дополнительно отмечено повышение числа сегментоядерных нейтрофилов почти на 6,47 %. Эти данные свидетельствуют о комплексном воздействии исследуемого соединения на гематологические параметры крыс [4, 7]. Результаты показывают, что при дозе 500 мг/кг экспериментальное соединение оказывает комплексное влияние на кроветворную систему крыс. Наиболее заметные и достоверные изменения зафиксированы в количестве эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов.

Согласно данным таблицы 2 наблюдения за кожными покровами животных показало, что при низких концентрациях суспензии «С-4» (0,5% и 1%) изменения были минимальными и ограничивались незначительным бледно-розовым покраснением (оценка 1–2 балла), которое быстро проходило в течение первых суток после нанесения. Отёчность, язвы или корочки не наблюдались, что свидетельствует о слабом раздражающем эффекте на кожу при данных концентрациях. При повышении концентрации до 5% отмечалось более выраженное покраснение, переходящее в ярко-розовое и красное (оценка 3–4 балла), а также появление умеренного отёка в некоторых случаях, особенно у кроликов. Однако язвенные поражения и корочки не фиксировались, что указывает на отсутствие глубокого повреждения тканей кожи. У овец реакция была менее выраженной, что может быть связано с особенностями строения кожи и более плотным волосным покровом, обеспечивающим дополнительную защиту. При максимальной концентрации 10% суспензии «С-4» наблюдались наиболее выраженные изменения. У кроликов отмечалось сильное покраснение, интенсивный отёк, а также появление мелких язвочек и корочек, что соответствовало оценке 5 по шкале раздражения. Эти проявления сохранялись в течение нескольких дней, постепенно уменьшаясь к концу наблюдательного периода. У овец реакция была менее выраженной, ограничиваясь ярко-розовым покраснением и умеренным отёком (оценка 3–4), без формирования язв и корочек. Такая разница в реакции между видами, вероятно, связана с различиями в толщине и структуре кожи, а также с особенностями иммунного ответа.

В ходе исследований воздействия «С-4» на слизистую оболочку глаз было установлено, что при низких концентрациях (0,5% и 1%) наблюдались незначительные признаки раздражения: слабое покраснение конъюнктивы и умеренное слезотечение, которые быстро проходили в течение первых суток. Отёчность тканей, изменение размера зрачка и нарушения состояния век не фиксировались, что свидетельствует о низкой токсичности вещества при данных концентрациях.

Таблица 2 – Результаты изучения местного раздражающего действия нового соединения «С-4» на кожу

Вид животных	Концентрация соединения (%) и реакция кожи животных по шкале			
	10	5	1	0,5
Кролики	0	0	0	0
Овцы	0	0	0	0

Примечание: 0 - реакция отсутствует

Таблица 3 – Результаты изучения местного раздражающего действия соединения «С-4» на слизистую оболочку глаз животных

Вид животных	Концентрация соединения (%) и реакция кожи животных по шкале			
	10	5	1	0,5
Кролики	0	0	0	0
Овцы	0	0	0	0

Примечание: 0 - реакция отсутствует

Данные таблицы 3 показывают, что соединение "С-4" не вызывает раздражения слизистой оболочки глаз у животных. На протяжении всего эксперимента не было замечено никаких признаков воспаления или повреждений глаз. Глаза, обработанные "С-4", выглядели так же, как и контрольные, обработанные дистиллированной водой. Это говорит о том, что лекарственное средство хорошо переносится при попадании на слизистую оболочку глаза, не вызывая покраснения, слезотечения или отека [8].

Заключение. Таким образом установлено, что при длительном приеме внутрь крысами определенного вещества в дозах 250 и 500 мг/кг наблюдались значительные нарушения кровообращения в слизистых оболочках желудка и кишечника, а также в таких органах, как почки и печень. Визуально эти органы приобретали темно-вишневый оттенок, а при микроскопическом исследовании печени были обнаружены небольшие участки повреждения клеток. Применение более высокой дозы (500 мг/кг) привело к существенным изменениям в крови животных. Количество красных кровяных телец (эритроцитов) снизилось на 22,7 %, а белых кровяных телец (лейкоцитов) – на 37,1 %. В то же время, количество тромбоцитов, отвечающих за свертываемость крови, увеличилось на 30,3 %. Также наблюдались тенденции к снижению числа моноцитов и лимфоцитов, а также уровня гемоглобина, и к увеличению количества сегментоядерных нейтрофилов, но эти изменения не были статистически значимыми. Важно отметить, что вещество "С-4" не вызвало никакого раздражения при нанесении на кожу или слизистые оболочки глаз у кроликов и овец, даже при использовании разных концентраций. Это свидетельствует о том, что данное соединение хорошо переносится при местном применении.

Список источников

1. Гиззатуллина, Р.Р. Распространение паразитозов в хозяйствах по выращиванию индеек / Р.Р. Гиззатуллина, Н.А. Лутфуллина, М.Х. Лутфуллин // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2014. – № 15. – С. 69-71. – EDN TCFXMD.
2. Гиззатуллин, Р.Р. Острая токсичность и раздражающее действие нового лекарственного средства "Азометин" / Р.Р. Гиззатуллин, Р.Р. Галяутдинова, М.Х. Лутфуллин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 242, № 2. – С. 44-46. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-242-2-44-47. – EDN ABKNPU.
3. Гиззатуллин, Р.Р. Структурная оценка эффективности применения соединения «к-55» при эймериозе цыплят / Р.Р. Гиззатуллин, М.Х. Лутфуллин, Д.Н. Мингалеев [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 256, № 4. – С. 50-55. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_256_50. – EDN NFWJIX.
4. Зайцева, А.В. Изучение влияния противопаразитарного соединения "СП" на морфологические показатели крови здоровых фазанов / А.В. Зайцева, М.Х. Лутфуллин, Р.Р. Гиззатуллин, А.И. Трубкин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2022. – Т. 251, № 3. – С. 112-115. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_3_251_112. – EDN XEIQI.
5. Лутфуллин, М.Х. Результаты исследования острой и хронической токсичности противопаразитарного соединения NB / М.Х. Лутфуллин, Р.И. Шангараев, Р.Р. Галяутдинова, З.Х. Терентьева // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 6(74). – С. 145-147. – EDN YSUCDJ.
6. Лутфуллин, М.Х. Оценка острой токсичности и кумулятивных свойств ксимедон гидрохлорида / М.Х. Лутфуллин, Т.В. Гарипов, Е.В. Шабалина // Российский паразитологический журнал. – 2008. – № 2. – С. 80-83. – EDN JXOJL.
7. Мухаммадиева, А.С. Изучение острой токсичности нового противопаразитарного средства / А.С. Мухаммадиева, М.Х. Лутфуллин // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2022. – № 23. – С. 344-347. – DOI 10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.344-347. – EDN OUNTYO.
8. Никифоров, П.Г. Стронгилятозы желудочно-кишечного тракта жвачных животных в Республике Татарстан (эпизоотология, диагностика и терапия): специальность 03.00.19 : диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Никифоров Павел Геннадьевич. – Казань, 2009. – 182 с. – EDN QEKMUH.
9. Рахматуллин Э.К. Исследование потенциальной токсичности комплексного препарата для наружного применения / Э.К. Рахматуллин, И.Р. Кадиков, Е.Н. Майорова, Е.И. Куршакова, Д.Р. Сагдеев // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 30 – 36. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_30
10. Фазулзянова, А.М. Острая, хроническая токсичность и раздражающее действие состава "Дегельм КД" / А.М. Фазулзянова, М.Х. Лутфуллин, Е.В. Хамзина // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2013. – Т. 3, № 6. – С. 278-280. – EDN RDISTJ.
11. Шангараев, Р.И. Токсикологическая оценка азометина "С-18" и изучение антигельминтной эффективности его различных доз при нематодирозе крупного рогатого скота / Р.И. Шангараев, М.Х. Лутфуллин, Р.Р. Тимербаева [и др.] // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2021. – Т. 22, № 1. – С. 104-118. – DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.1.104-118. – EDN BGKGRN.

References

1. Gizzatullina, R.R. Distribution of Parasitoses in Poultry Farms / R.R. Gizzatullina, N.A. Lutfullina, M.Kh. Lutfullin // Theory and Practice of Parasitic Diseases Control. – 2014. – No. 15. – Pp. 69-71. – EDN TCFXMD.
2. Gizzatullin, R.R. Acute Toxicity and Irritant Effects of the New Drug "Azometin" / R.R. Gizzatullin, R.R. Galyautdinova, and M.Kh. Lutfullin // Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2020. – Vol. 242, No. 2. – Pp. 44-46. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-242-2-44-47. – EDN ABKNPU.
3. Gizzatullin, R.R. Structural assessment of the effectiveness of the application of the compound "k-55" in the treatment of chicken coccidiosis / R.R. Gizzatullin, M.Kh. Lutfullin, D.N. Mingaleev [et al.] // Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2023. – Vol. 256, No. 4. – Pp. 50-55. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_256_50. – EDN NFWJIX.
4. Zaitseva, A.V. Study of the Effect of the Antiparasitic Compound "SP" on the Morphological Parameters of the Blood of Healthy Pheasants / A.V. Zaitseva, M.Kh. Lutfullin, R.R. Gizzatullin, and A.I. Trubkin // Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2022. – Vol. 251, No. 3. – Pp. 112-115. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_3_251_112. – EDN XEI-WQI.
5. Lutfullin, M.Kh. Results of the study of acute and chronic toxicity of the antiparasitic compound NB / M.Kh. Lutfullin, R.I. Shangaraev, R.R. Galyautdinova, Z.Kh. Terentyeva // Izvestiya of the Orenburg State Agrarian University. – 2018. – No. 6(74). – Pp. 145-147. – EDN YSUCDJ.
6. Lutfullin, M.Kh. Assessment of the Acute Toxicity and Cumulative Properties of Xymedon Hydrochloride / M.Kh. Lutfullin, T.V. Garipov, and E.V. Shabalina // Russian Parasitological Journal. – 2008. – No. 2. – Pp. 80-83. – EDN JXOJIL.
7. Mukhammadiyeva, A.S. Study of the acute toxicity of a new antiparasitic agent / A.S. Mukhammadiyeva, M.Kh. Lutfullin // Theory and practice of combating parasitic diseases. – 2022. – No. 23. – Pp. 344-347. – DOI 10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.344-347. – EDN OUHTYO.
8. Nikiforov, P.G. Strongylatoses of the Gastrointestinal Tract of Ruminant Animals in the Republic of Tatarstan (Epizootiology, Diagnostics, and Therapy) : Speciality 03.00.19 : Dissertation for the Degree of Candidate of Veterinary Sciences / Nikiforov Pavel Gennadievich. – Kazan, 2009. – 182 p. – EDN QEKMUH.
9. Rakhmatullin E.K. Study of the potential toxicity of a complex preparation for external use / E.K. Rakhmatullin, I.R. Kadikov, E.N. Mayorova, E.I. Kurshakova, D.R. Sagdeev // Veterinarian. 2025. No. 5. Pp. 30 – 36. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_30
10. Fazulzyanova, A.M. Acute, chronic toxicity and irritating effect of the composition "Degelm KD" / A.M. Fazulzyanova, M.Kh. Lutfullin, E.V. Khamzina // Collection of scientific papers of the Stavropol Research Institute of Animal Husbandry and Fodder Production. – 2013. – Vol. 3, No. 6. – Pp. 278-280. – EDN RDISTJ.
11. Shangaraev, R.I. Toxicological assessment of azometin "C-18" and study of its various doses' anthelmintic effectiveness in cattle nematodiasis / R.I. Shangaraev, M.Kh. Lutfullin, R.R. Timerbaeva [et al.] // Agrarian Science of the Euro-North-East. – 2021. – Vol. 22, No. 1. – Pp. 104-118. – DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.1.104-118. – EDN BGKGRN.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 25.03.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 14 – 21
The Veterinarian. 2026; (3): 14 – 21

Научная статья

УДК 619:615.9:616.36:611.018:576.31

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_14

ГИСТОСТРУКТУРА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ СМЕШАННОМ МИКОТОКСИКОЗЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТОКСИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ

Наиля Наримановна Мишина¹, кандидат биологических наук, *mishinanailyan@yandex.ru*

Анастасия Владимировна Софронова¹, кандидат биологических наук, *anastaciaa349ot116@mail.ru*

Марина Александровна Ерохондина¹, *m.erohondina@gmail.com*

Элина Илгизовна Идрисова¹, *Elina.idrisova82@mail.ru*

Алмаз Рафаильевич Валиев¹, кандидат биологических наук, *varalmaz@yandex.ru*

Айрат Фаридович Хасиятуллин¹, *a.f.khasiyatullin@gmail.com*

Елена Георгиевна Губеева^{1,2}, кандидат медицинских наук, *gubeevae@mail.ru*

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Наиля Наримановна Мишина.

Аннотация. Применение специализированных антитоксических сывороток при микотоксикозе животных (в частности, при Т-2 токсикозе) является эффективным методом терапии, направленным на нейтрализацию микотоксинов в организме, снижение смертности, повышение сохранности поголовья и улучшение показателей прироста массы тела. Применение антитоксической сыворотки способствует стабилизации биохимических показателей крови, улучшению общего физиологического состояния животных и их продуктивности. Эксперимент проводили на 24 белых крысах весом от 165 до 170 г в течение 30 суток. Животные были разделены на 4 группы по 6 в каждой. Первая группа служила биологическим контролем; вторая получала корм, содержащий смесь микотоксинов, в дозе двух ПДК; крысы третьей группы получали корм с применением АС, в виде внутримышечных введений, четвертая получала корм, контаминированный микотоксинами на фоне применения терапии в виде внутримышечных инъекций лечебной антитоксической сыворотки на 1-, 7- и 14-ые сутки эксперимента в дозе 0,3 мл на килограмм веса. Для гистологического исследования образцы органов были подвергнуты тщательной фиксации. Этот первоначальный этап включал использование 10% забуференного нейтрального формалина, с обязательным соблюдением максимальных размеров образцов – не более 10×10×0,5 мм. Такой подход обеспечивал равномерное проникновение фиксирующего раствора, сохраняя при этом структурную целостность тканей для дальнейшего анализа. После фиксации проводилась дегидратация образцов. Этот процесс осуществлялся путем последовательного погружения тканей в спирты возрастающей крепости, начиная с низких концентраций и постепенно переходя к абсолютному спирту. Целью дегидратации было удаление воды из тканей, что являлось необходимым условием для последующей инфильтрации парафином. Далее образцы заливали в парафин. Полученные парафиновые блоки были нарезаны на тончайшие срезы толщиной 5-7 мкм с помощью микротомы. Для удаления парафина и подготовки ткани к окрашиванию проводился процесс депарафинизации. Затем срезы подвергались окрашиванию гематоксилином и эозином. Подготовленные гистологические препараты были впоследствии изучены с использованием светоптического микроскопа Leica DM 1000 (Германия). Это позволило проводить количественные и качественные оценки клеточных и тканевых структур.

Ключевые слова: микотоксины, белые крысы, антитоксическая сыворотка, гистология, токсин

Для цитирования: Мишина Н. Н., Софронова А. В., Ерохондина М. А., Идрисова Э. И., Валиев А. Р., Хасиятуллин А. Ф., Губеева Е. Г. Гистоструктура внутренних органов белых крыс при смешанном микотоксикозе на фоне применения антитоксической сыворотки // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 14 – 21. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_14

HISTOSTRUCTURE OF INTERNAL ORGANS OF WHITE RATS WITH MIXED MYCOTOXICOSIS DURING THE APPLICATION OF ANTITOXIC SERUM

Nailya N. Mishina¹, Candidate of Biological Sciences, *mishinanailyan@yandex.ru*

Anastasia V. Sofronova¹, Candidate of Biological Sciences, *anastaciaa349ot116@mail.ru*

Marina A. Erokhondina¹, *m.eroxondina@gmail.com*

Elina I. Idrisova¹, *Elina.idrisova82@mail.ru*

Almaz R. Valiev¹, Candidate of Biological Sciences, *varalmaz@yandex.ru*

Airat F. Khasiyatullin¹, *a.f.khasiyatullin@gmail.com*

Elena G. Gubeeva^{1,2}, Candidate of Medical Sciences, *gubeevae@mail.ru*

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Nailya Narimanovna Mishina.

Abstract. The use of specialized antitoxic serums for mycotoxicosis in animals (particularly T-2 toxicosis) is an effective treatment method aimed at neutralizing mycotoxins in the body, reducing mortality, increasing livestock survival, and improving weight gain. The use of antitoxic serum helps stabilize blood biochemical parameters, improve the general physiological condition of animals and their productivity. The experiment was conducted on 24 white rats weighing between 165 and 170 g for 30 days. The first group served as a biological control; the second received feed containing a mixture of mycotoxins at a dose of two MPC; rats of the third group received feed with the use of AS, in the form of intramuscular injections, the fourth received feed contaminated with mycotoxins against the background of therapy in the form of intramuscular injections of therapeutic antitoxic serum on the 1st, 7th and 14th days of the experiment at a dose of 0.3 ml per kilogram of weight. For histological examination, organ samples were carefully fixed. This initial step involved the use of 10% neutral buffered formalin, with strict adherence to maximum sample dimensions of no more than 10 x 10 x 0.5 mm. This approach ensured uniform penetration of the fixative solution while maintaining the structural integrity of the tissues for further analysis. After fixation, the samples were dehydrated. This process was accomplished by sequentially immersing the tissues in alcohols of increasing strength, starting with low concentrations and gradually moving to absolute alcohol. The purpose of dehydration was to remove water from the tissues, which was a prerequisite for subsequent paraffin infiltration. The samples were then embedded in paraffin. The resulting paraffin blocks were cut into extremely thin sections (5-7 µm thick) using a microtome. To remove paraffin and prepare the tissue for staining, deparaffinization was performed. The sections were then stained with hematoxylin and eosin. The prepared histological specimens were subsequently examined using a Leica DM 1000 light microscope (Germany). This allowed for quantitative and qualitative assessment of cellular and tissue structures.

Keywords: mycotoxins, white rats, antitoxic serum, histology, toxin

Введение. В современных условиях животноводства микотоксикозы сельскохозяйственных животных встречаются достаточно часто и представляют серьезную проблему [1]. Эти заболевания вызываются токсинами, которые вырабатывают определённые виды грибов, заражающих корма растительного происхождения. Высокий уровень заражения кормов микотоксинами приводит к ухудшению здоровья животных, снижению продуктивности и, как следствие, значительным экономическим потерям для фермерских хозяйств. Поэтому контроль качества кормов и профилактика микотоксикозов являются важными задачами для успешного ведения животноводства [2,3].

Патоморфологические изменения при микотоксикозах характеризуются системным поражением, включая дистрофические, некротические и геморрагические процессы. Основными мишенями являются печень (жировая дистрофия, некрозы), почки (нефрозонефрит), желудочно-кишечный тракт (катаральное/геморрагическое воспаление) и иммунная система (атрофия лимфоидной ткани), что часто сопровождается геморрагическим синдромом.

В печени наблюдаются жировая дистрофия и очаги некроза, что свидетельствует о нарушении обменных процессов и повреждении клеток. Почки поражаются нефрозонефритом — воспалением и дистрофией почечной ткани, что приводит к нарушению фильтрационной функции. В желудочно-кишечном тракте развиваются катаральное или геморрагическое воспаление, сопровождающееся повреждением слизистой оболочки и кровоизлияниями. Иммунная система страдает за счет атрофии лимфоидной ткани, что снижает защитные возможности организма [4].

Применение антитоксических сывороток при микотоксикозах (особенно Т-2 токсикозе) является методом специфической терапии, направленным на нейтрализацию токсинов грибного проис-

хождения в организме животных [5,6]. В отличие от адсорбентов, связывающих токсины в кишечнике, сыворотки действуют непосредственно в крови, обеспечивая лечебный эффект при уже развившемся заболевании [7]. В нашем исследовании оценены патоморфологические изменения органов белых крыс при смешанном микотоксикозе на фоне применения антитоксической сыворотки.

Цель исследования – оценка гистоструктуры внутренних органов белых крыс при экспериментальном полимикотоксикозе и применении антитоксической сыворотки.

Материалы и методы. Моделирование полимикотоксикоза проводили путем поэтапного смешивания зерносмеси (пшеница, овес и ячмень), естественным образом загрязнённой фузариотоксинами, с полнорационным комбикормом. При этом дозировка осуществлялась таким образом, чтобы в итоговом составе готового корма содержание каждого токсина было не менее чем двукратно превышающим предельно допустимую концентрацию (ПДК): Т-2 токсин в дозе 0,1 мг/кг корма, зеараленон 0,5 мг/кг, дезоксиниваленол-1,0 мг/кг, фумонизин В1-1,0 мг/кг. Контроль концентрации микотоксинов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС, США).

Опыты проводили на 24 белых крысах весом от 165 до 170 в течение 30 суток. Животные были разделены на 4 группы по 6 в каждой. Первая группа служила биологическим контролем (БК); вторая получала корм, содержащий смесь микотоксинов, в дозе двух ПДК (ТК); крысам третьей группы внутримышечно вводили АС на 1-, 7- и 14-ые сутки эксперимента в дозе 0,3 см³ на килограмм веса., четвертая получала корм, контаминированный микотоксинами и внутримышечные инъекции АС по аналогичной схеме.

Группа	Название группы
1	Биологический контроль (БК)
2	Токсический контроль (ТК)
3	АС, в/м
4	Опытная (МТ+АС, в/м)

Для гистологического исследования образцы органов фиксировали в 10 % забуференном нейтральном формалине размером не более 10х10х0,5 мм, обезжизняли в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм депарафинировали, затем окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали в светооптическом микроскопе Leica DM 1000 с цифровой камерой Leica DFC 320 (Германия).

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ гистологических срезов сердца, печени, почек, селезенки, мышечного желудка и тонкого кишечника у белых крыс группы биологического контроля не выявил каких-либо патологических изменений.

Наиболее выраженные изменения были обнаружены в группе токсического контроля. В препаратах сердца крыс наблюдались значительные изменения в сосудистой системе. Стенки артерий были утолщены, а их просветы расширены и заполнены эритроцитарными массами, а также гомогенными эозинофильными массами. Вены и капилляры расширены, при этом их наполнение кровью было неравномерным. В кардиомиоцитах исчезала поперечная исчерченность. Отмечалась выраженная фрагментация кардиомиоцитов (рисунок 2 А).

В печени артерии были спазмированы, их стенки утолщены с нечеткой структурой, ядра в эндотелии на некоторых участках отсутствовали. Вены также были расширены, местами со «стертой» структурой. Просветы сосудов содержали гомогенные эозинофильные массы и эритроцитарные скопления. В некоторых сосудах и в периваскулярных пространствах обнаруживались круглоядерные клетки. Синусоиды были расширены, в их просветах встречались эритроцитарные массы. Некоторые гепатоциты лишены ядер, их контуры были нечеткими. В цитоплазме гепатоцитов определялась эозинофильная зернистость, гомогенные глыбки и оптические пустоты. Микрофаги в синусоидах встречались редко, а купферовские клетки были увеличены и базофильны. Границы печеночных долек не прослеживались, балочное строение в них отсутствовало (рисунок 2 Б).

В почках кровенаполнение коркового и мозгового слоев было умеренным. Капилляры клубочков неравномерно наполнялись кровью, а мезангиальные клетки местами отекали. Подкапсульное пространство представляло собой узкие щели. Эпителиальные клетки канальцев набухали неравномерно, а в некоторых из них обнаруживались бурые глыбки. (рисунок 2 В).

Рисунок 1 – Внутренние органы (А – сердце, Б – печень, В – почка, Г – селезенка, Д – желудок, Е – тонкий кишечник) белых крыс группы биологического контроля, окраска гематоксилином Майера и эозином 0,4% спиртовым, ув. X620.

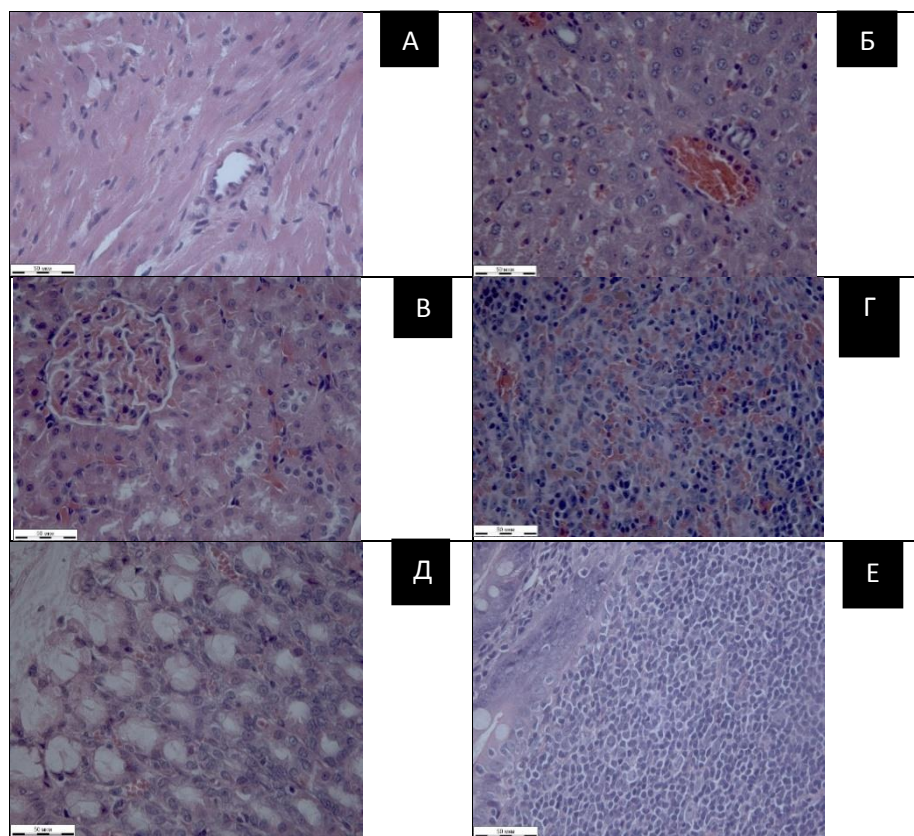
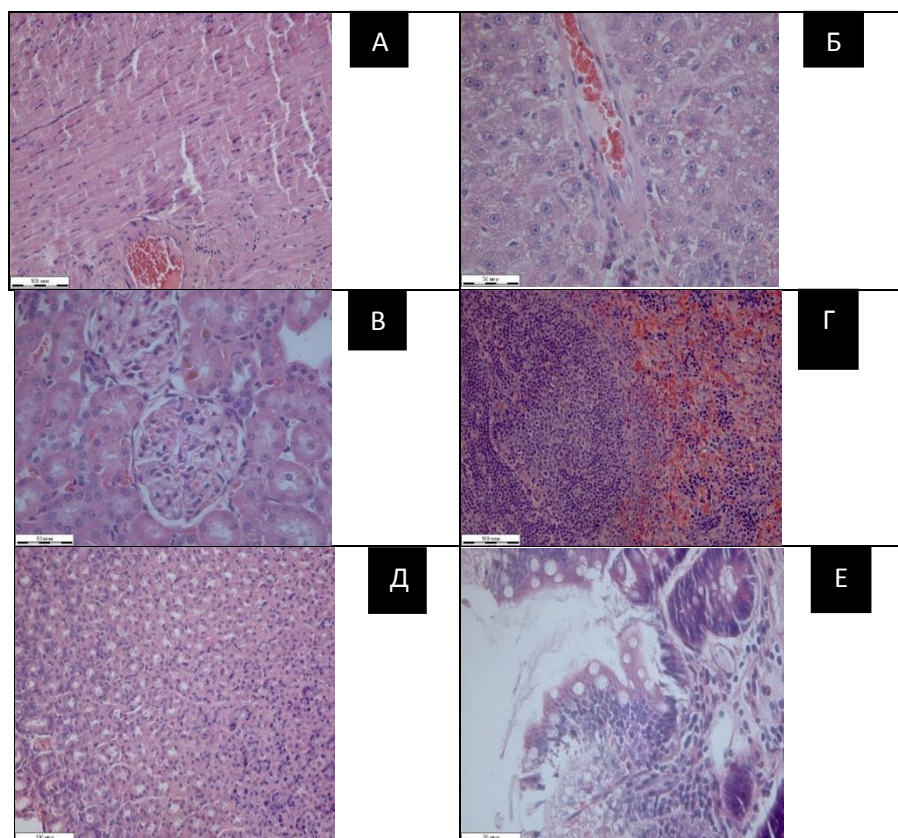
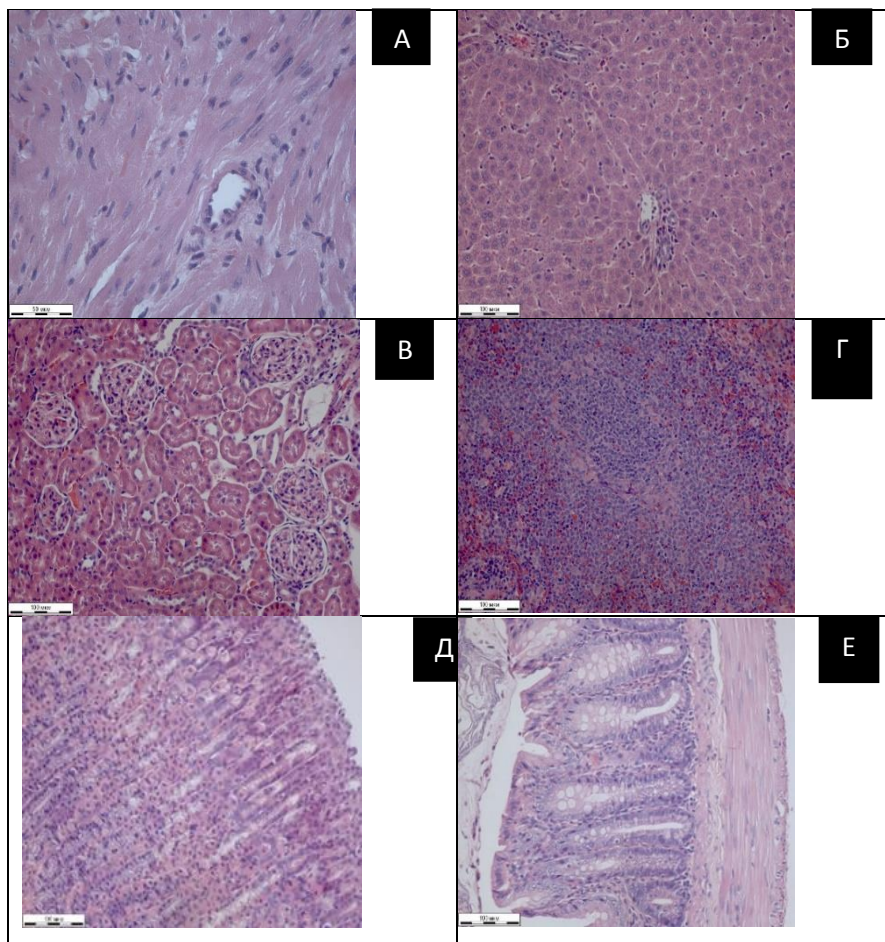


Рисунок 2 – Внутренние органы (А – сердце, Б – печень, В – почка, Г – селезенка, Д – желудок, Е – тонкий кишечник) белых крыс второй группы, окраска гематоксилином Майера и эозином 0,4% спиртовым, ув. X620.



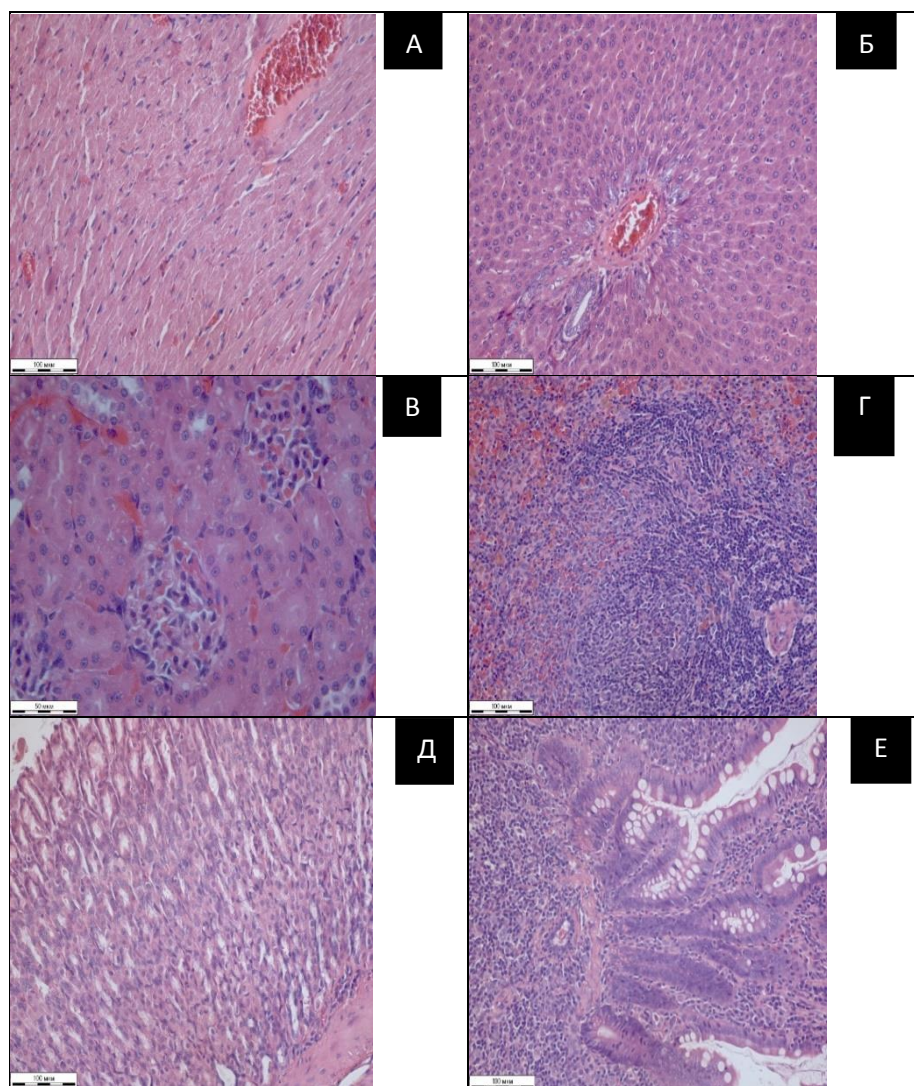
Селезенка с капсулой (рисунок 2 Г). Красная пульпа была полнокровной, белая пульпа заполнена лимфатическими клетками. В фолликулоподобных структурах в центральной части видны фрагменты лимфоцитов. Слизистая оболочка желудка покрыта однослойным цилиндрическим эпителием, желудочные ямки в срезе неглубокие. В нижележащих отделах слизистой встречались единичные лимфатические клетки, структура слоев не нарушалась (рисунок 2 Д). Стенка тонкого кишечника имела сниженное кровенаполнение. Ворсины в ней средней высоты со сглаженными вершинами, бокаловидные клетки встречались часто. В собственном слое слизистой и подслизистом слое обнаруживались единичные лимфатические клетки и лейкоциты (рисунок 2 Е).

Рисунок 3 – Внутренние органы (А – сердце, Б – печень, В – почка, Г – селезенка, Д – желудок, Е – тонкий кишечник) белых крыс третьей группы, окраска гематоксилином Майера и эозином 0,4% спиртовым, ув. Х310.



Структура сердца соответствует норме, отклонений на гистологическом уровне не выявлено (см. рисунок 3 А). Печень представлена сериями срезов паренхимы, где артериальные сосуды в триадах имеют пустые просветы и демонстрируют неравномерное расширение. Вены на поперечных срезах овальной формы, умеренно заполнены эритроцитами и единичными лимфатическими клетками. Границы печёночных долек не прослеживаются. Гепатоциты окрашены эозинофильно, с зернистой цитоплазмой, патологических изменений не выявлено (рисунок 3 Б). Почка покрыта капсулой, кровенаполнение органа находится на среднем уровне. Эпителий канальцев в корковом слое окрашен эозинофильно, ядра имеют базофильную окраску. Прямые канальцы выстланы светлым эпителием (рисунок 3 В). Селезёнка на срезах с капсулой показывает сниженное кровенаполнение. Красная пульпа умеренно наполнена кровью. Белая пульпа состоит из лимфатических клеток, формирующих отдельные фолликулы с выраженной маргинальной зоной (рисунок 3 Г). Стенка желудка на срезах демонстрирует все слои, при этом структура не содержит патологических изменений (рисунок 3 Д). В срезах стенки тонкого кишечника отмечается пониженное кровенаполнение. Ворсины имеют среднюю высоту с уплощёнными вершинами. Слизистый слой содержит единичные лимфатические клетки (рисунок 3 Е).

Рисунок 4 – Внутренние органы (А – сердце, Б – печень, В – почка, Г – селезенка, Д – желудок, Е – тонкий кишечник) белых крыс четвертой группы, окраска гематоксилином Майера и эозином 0,4% спиртовым, ув.Х310



При микроскопическом исследовании сердца животных опытной группы выявлено, что артериальные сосуды неравномерно расширены и кровенаполнены, при этом просветы содержат однородные эозинофильные массы и скопления эритроцитов. Вены и капилляры также расширены, кровенаполнение в них распределено неравномерно. Кардиомиоциты в срезах ориентированы преимущественно косопоперечно.

В печени артериальные сосуды расширены, заполнены однородными эозинофильными массами и эритроцитами. Вены расширены, содержат скопления эритроцитов. Границы печеночных долек не прослеживаются, однако балочное строение сохраняется. Синусоиды в основном пустые, гепатоциты не имеют признаков разрушения.

Почка покрыта капсулой, которая хорошо видна на срезах. Кровенаполнение коркового и мозгового слоев умеренное. Эпителий канальцев не изменён. Капилляры клубочков заполнены кровью в умеренной степени. В некоторых участках наблюдается утолщение мезангиальных клеток с однородной структурой. Пространство между капсулой и клубочком практически не определяется.

Селезенка покрыта соединительнотканной капсулой. Красная пульпа содержит умеренное количество эритроцитов, белая пульпа состоит из лимфатических клеток. Встречаются отдельные структуры, напоминающие фолликулы.

Стенка желудка представлена всеми слоями. Слизистая оболочка покрыта однослойным цилиндрическим эпителием с мелкими желудочными ямками. Структура слоев не имеет патологических изменений.

Тонкий кишечник представлен подвздошной кишкой. Ворсины высокие. В слизистом слое лимфатические клетки и фолликулоподобные структуры.

Заключение. При изучении препаратов от животных группы биологического контроля, в печени выявлены признаки, которые могут наблюдаться при вакуольной дистрофии. Строение сердца, почек, селезенки, желудка, кишечника без особенностей.

В гистологических препаратах крыс группы токсического контроля, выраженные признаки полиморфной дистрофии печени с некрозами, фрагментация кардиомиоцитов, отек, гиалиноз сосудов артериального типа сердца, печени, белковая дистрофия с отложением бурого пигмента в эпителии почек, отек мезангиальных клеток клубочков почек, инфильтрация лимфатическими клетками стенки желудка, кишечника, отек слизистой толстой кишки. В селезенке признаки разрушения эритроцитов в красной пульпе и лейкоцитов в белой.

У животных, получавших внутримышечные инъекции АС, патологические изменения в печени, почках, селезенке, желудке и тонком кишечнике не выявлены.

В группе, получавшей контаминированный корм и терапию, в виде парентерального введения лечебной антитоксической сыворотки на 1,7 и 14-е дни опыта, структура органов соответствовала норме. Как некоторые особенности можно учесть отечность мезангиальных клеток клубочков, которая слабо выражена. Другие изменения не выявлены.

Из результатов наших исследований видно, что в опытной группе внутренние органы оказались более защищены от токсического воздействия, на что указывают менее выраженные изменения в их структуре, по сравнению с группой токсического контроля.

Список источников

1. Диагностика и ветеринарная помощь при отравлениях животных: (Общие принципы) / А. М. Трemasова, И. И. Идиятов, Э. И. Семенов [и др.]. – Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2022. – 236 с.
2. Микологическая статистика загрязненности кормов по отдельным районам Поволжья / Р. М. Потехина, Э. И. Семенов, Л. Е. Матросова, К. Х. Папуниди // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2019. – Т. 5, № 2(18). – С. 197-203. – DOI 10.30914/2411-9687-2019-5-2-197-203.
3. Влияние комбинированного действия микотоксинов и ионизирующего излучения на аллергическую сенсibilизацию / Э. И. Семенов, Н. Н. Мишина, А. Р. Валиев [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 2. – С. 60-69. – DOI 10.33632/1998-698X_2023_2_60.
4. Гистологические изменения внутренних органов цыплят-бройлеров при воздействии тетрахлорметана и применение кормовой добавки «Гепатопротект» / Л. Е. Матросова, В. О. Домбровский, А. М. Хафизова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 5. – С. 47-51. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_5_47. – EDN EVUYZA.
5. Эффективность профилактического комплекса на основе природного минерала галлуазита при смешанном микотоксикозе кроликов / Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова, С. А. Танасева, Э. И. Семенов // Ветеринария. – 2022. – № 11. – С. 62-65. – DOI 10.30896/0042-4846.2022.25.11.62-65.
6. Микофлора кормов в районах Республики Татарстан / О. К. Ермолаева, С. А. Танасева, Л. Е. Матросова [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 243, № 3. – С. 84-87. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-243-3-84-87.
7. Изучение комбинированного действия фузариотоксинов в различных дозах на организм белых крыс / Н. Н. Мишина, А. В. Софронова, М. А. Ерохондина [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 4. – С. 32-38. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_32. – EDN JFLCYE.

References

1. Diagnostics and veterinary care for animal poisoning: (General principles) / A. M. Tremasova, I. I. Idiyatov, E. I. Semenov [et al.]. - Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 2022. - 236 p.
2. Mycological statistics of feed contamination in certain areas of the Volga region / R. M. Potekhina, E. I. Semenov, L. E. Matrosova, K. Kh. Papunidi // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic Sciences. - 2019. - Vol. 5, No. 2 (18). - P. 197-203. - DOI 10.30914/2411-9687-2019-5-2-197-203.

- 3 The influence of the combined action of mycotoxins and ionizing radiation on allergic sensitization / E. I. Semenov, N. N. Mishina, A. R. Valiev [et al.] // Veterinary doctor. - 2023. - No. 2. - P. 60-69. - DOI 10.33632/1998-698X_2023_2_60.
- 4 Histological changes in the internal organs of broiler chickens exposed to carbon tetrachloride and the use of the feed additive "Gepatoprotekt" / L. E. Matrosova, V. O. Dombrovsky, A. M. Khafizova [et al.] // Veterinary doctor. - 2025. - No. 5. - P. 47-51. - DOI 10.33632/1998-698X_2025_5_47. - EDN EVUYZA.
- 5 Efficiency of a prophylactic complex based on the natural mineral halloysite in mixed mycotoxicosis of rabbits / E. Yu. Tarasova, L. E. Matrosova, S. A. Tanaseva, E. I. Semenov // Veterinary Science. - 2022. - No. 11. - P. 62-65. - DOI 10.30896/0042-4846.2022.25.11.62-65.
- 6 Mycoflora of feed in the regions of the Republic of Tatarstan / O. K. Ermolaeva, S. A. Tanaseva, L. E. Matrosova [etc.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after. N.E. Bauman. – 2020. – T. 243, No. 3. – P. 84-87. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-243-3-84-87.
- 7 Study of the combined effect of fusariotoxins in various doses on the body of white rats / N. N. Mishina, A. V. Sofronova, M. A. Erokhondina [et al.] // Veterinary doctor. - 2025. - No. 4. - P. 32-38. - DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_32. - EDN JFLCYE.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 09.04.2026;

© Мишина Н. Н., Софронова А. В., Ерохондина М. А., Идрисова Э. И., Валиев А. Р., Хасиятуллин А. Ф., Губеева Е. Г. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 22 – 28
The Veterinarian. 2026; (3): 22 – 28

Научная статья
УДК 619:615.916
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_22

ИЗУЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПИРЕТРОИДНОГО ПРЕПАРАТА С ЦИПЕРМЕТРИНОМ

Эмиль Касымович Рахматуллин¹, доктор ветеринарных наук, amil59@yandex.ru
Ильнур Равилевич Кадиков¹, доктор биологических наук, cir6@yandex.ru
Даниль Рустамович Сагдеев¹, кандидат ветеринарных наук, sagdeevdanil@mail.ru
Екатерина Николаевна Майорова¹, кандидат биологических наук, majorovaen83@mail.ru
Екатерина Ивановна Куршакова¹, кандидат биологических наук, Keter-89@mail.ru
Никита Владиславович Николаев², кандидат ветеринарных наук, nikitoz.vet@mail.ru
Тагир Мунирович Закиров², кандидат биологических наук, tagir0410907@mail.ru

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

²Казанский государственный аграрный университет
Институт «Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Эмиль Касымович Рахматуллин.

Аннотация. Местное применение препарата циперметрина в течение пяти дней в дозах 0,3 и 3 мл/кг у крыс не вызывало токсических эффектов. После введения наблюдались некоторые колебания количества эритроцитов, гемоглобина, СОЭ, количества лейкоцитов и лейкограммы. Однако эти колебания были статистически незначимы по сравнению с контрольной группой. На основании этих результатов можно сделать вывод, что препарат не влияет на гематологические параметры у крыс после повторного применения. После кожного применения циперметрина в течение 5-дневного эксперимента у животных экспериментальных групп наблюдались некоторые колебания общего белка, глюкозы, билирубина, мочевины и активности ферментов (АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы). Однако эти колебания не отличались существенно от таковых в контрольной группе. Препарат не вызывает признаков угнетения или токсического воздействия после пяти дней применения и не влияет на гематологические и биохимические показатели лабораторных животных. Отсутствие значительных изменений после введения препарата указывает на наличие защитного слоя кожи, препятствующего проникновению препарата. Роговой слой кожи действует как эффективный барьер, ограничивая проникновение большинства лекарственных препаратов и предотвращая их проникновение через кожу. Препарат циперметрина не вызывает угнетения, токсикоза при применении в течение пяти дней, не проявляет хронического отравления и не влияет на гематологические или биохимические показатели у опытных крыс.

Ключевые слова: общий белок, глюкоза, билирубин, мочевина, АСТ, АЛТ и щелочная фосфатаза

Для цитирования: Рахматуллин Э. К., Кадиков И. Р., Сагдеев Д. Р., Майорова Е. Н., Куршакова Е. И., Николаев Н. В., Закиров Т. М. Изучение хронической токсичности пиретроидного препарата с циперметрином // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 22 – 28. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_22

STUDY OF CHRONIC TOXICITY OF A PYRETHROID DRUG WITH CYPERMETRIN

Emil K. Rakhmatullin¹, Doctor of Veterinary Sciences, amil59@yandex.ru
Ilnur R. Kadikov¹, Doctor of Biological Sciences, cir6@yandex.ru
Danil R. Sagdeev¹, Candidate of Veterinary Sciences, sagdeevdanil@mail.ru
Ekaterina N. Mayorova¹, Candidate of Biological Sciences, majorovaen83@mail.ru

Ekaterina I. Kurshakova¹, Candidate of Biological Sciences, *Keter-89@mail.ru*
 Nikita V. Nikolayev², Candidate of Veterinary Sciences, *nikitoz.vet@mail.ru*
 Tagir M. Zakirov², Candidate of Biological Sciences, *tagir0410907@mail.ru*

Corresponding author: Emil Kasimovich Rakhmatullin.

Abstract. Five-day topical application of cypermethrin to rats at doses of 0,3 and 3 ml/kg did not cause significant toxic effects. Some fluctuations in red blood cell count, hemoglobin, ESR, white blood cell count, and leukogram were observed after administration. However, these fluctuations were statistically insignificant compared to the control group. Based on these results, it can be concluded that the drug does not affect hematological parameters in rats after repeated administration. After topical application of cypermethrin over a 5-day experiment, animals in the experimental groups exhibited some fluctuations in total protein, glucose, bilirubin, urea, and enzyme activity (AST, ALT, and alkaline phosphatase). However, these fluctuations did not differ significantly from those in the control group. The drug does not affect hematological or biochemical parameters of laboratory animals and does not cause signs of depression or toxicity after five days of application. The absence of significant changes after administration indicates the presence of a protective layer of the skin that prevents drug penetration. The stratum corneum acts as an effective barrier, limiting the penetration of most medications and preventing their absorption through the skin. Cypermethrin does not cause depression or intoxication after five days of use, does not exhibit chronic toxicity, and does not affect hematological or biochemical parameters in laboratory rats.

Keywords: total protein, glucose, bilirubin, urea, AST, ALT and alkaline phosphatase

Введение. Химические средства защиты растений используются во всем мире на протяжении многих десятилетий для поддержания роста постоянно увеличивающегося населения за счет повышения производства продуктов питания, а также для защиты от болезней, передаваемых переносчиками [9]. Акарициды, применяемые для борьбы с эктопаразитами человека и животных, могут оказывать токсическое действие. Воздействие пестицидов опасно для здоровья сельскохозяйственных животных и человека и может нарушить нормальное функционирование различных органов организма [11, 21]. Трудности и сложности, связанные с воздействием ксенобиотиков на организм продуктивных животных и человека включают в себя заболевания крови, такие как анемия, нарушения свертываемости крови, повреждение нервной системы, паралич, фиброз печени, желтуха, аллергические реакции, проблемы с выделением, врожденные дефекты, бесплодие, рак и генетические заболевания [10]. Поиск новых акарицидов, менее токсичных для млекопитающих и менее устойчивых к насекомым, привел к разработке синтетических пиретроидов. Ведутся исследования и полевые испытания новых пиретроидных акарицидов, с целью повышения эффективности борьбы с вредителями. Использование пиретроидов в ветеринарной медицине демонстрирует устойчивую тенденцию к росту. Это обусловлено несколькими факторами, включая развитие рынка ветеринарных услуг, необходимость борьбы с устойчивостью паразитов к препаратам и расширение спектра инсектицидов. Пиретроиды (циперметрин, дельтаметрин, лямбда-цигалотрин) широко используются в ветеринарной медицине и здравоохранении в качестве эффективных инсектицидов против переносчиков опасных заболеваний. В связи с этим растет обеспокоенность общественности по поводу здоровья животных и человека. Пиретроиды часто используются благодаря их высокой активности против широкого спектра членистоногих и относительно низкой токсичности для теплокровных животных. Синтетические пиретроиды представляют группа соединений, насчитывающий более тысячи органических пестицидов широкого спектра действия, используемых в быту, ветеринарии и сельском хозяйстве. Препараты на основе пиретроидов используются в виде растворов, эмульсий и порошков для обработки животных и помещений. Однако их растущее использование вызывает вопросы о воздействии этой группы инсектицидов на окружающую среду, сельскохозяйственных животных и человека. Циперметрин относится к классу синтетических пиретроидов II типа и используется в сельском хозяйстве и быту. Циперметрин обладает инсектицидным действием. Его токсическое воздействие на насекомых происходит контактным и желудочным путем, с высокой начальной активностью. Он также обладает овицидным действием. Он парализует нервную систему как личинок, так и взрослых насекомых. Он не оказывает системного воздействия, но сохраняется на обработанных поверхностях в течение длительного времени (20–30 дней) благодаря своей устойчивости к высоким температурам и ультрафиолетовым лучам. Он эффективно подавляет популяции насекомых, устойчивых к фосфорорганическим инсектицидам. Сублетальные дозы циперметрина отпугивают многие виды насекомых. Несмотря на широкое применение, циперметрин не лишен нежелательных эффектов. Олеофильная природа циперметрина позволяет ему легко проникать через клеточную мембрану, вызывая изменения во внут-

ренной структуре клеточной мембраны и утечку клеточных ферментов [12]. Водоотталкивающая природа пестицидов также способствует их накоплению в печени, почках, жировой ткани, коже, легких, головном мозге, надпочечниках и репродуктивных органах организма [22]. Они накапливаются в биологических мембранах и стимулируют образование активных форм кислорода у млекопитающих, вызывая окислительное повреждение [17]. Научная литература указывает на то, что перманентное воздействие циперметрина, синтетического пиретроидного инсектицида, вызывает значительные долгосрочные повреждающее действие, в том числе нейротоксические, гепатотоксические и нефротоксические. Циперметрин вызывает стойкий окислительный стресс, мутагенность и иммунную дисфункцию. Ключевые хронические последствия включают нейропатические нарушения, репродуктивную токсичность, задержку роста и изменения в поведении из-за медленного выведения из организма [8]. Современные требования к ветеринарным препаратам включают терапевтическую активность, низкую токсичность для животных и человека, а также безвредность для окружающей среды [1, 3].

Целью исследования является изучение длительного токсического действия ветеринарного препарата с цимбушом.

Материалы и методы. В работе использовали препарат циперметрина, применяемый для локального нанесения в области спины и холки для борьбы с эктопаразитами животных. В состав препарата входят: цимбуш – 1,2%, уксуснобутиловый эфир – 25,1% и бутиловый спирт – до 100%. По внешнему виду это жидкость желто-коричневого цвета, смешивающаяся с водой во всех соотношениях. Исследование хронической токсичности препарата циперметрина проводилось в соответствии с действующими рекомендациями [4]. В эксперименте использовались тридцать взрослых самцов непородистых белых крыс весом от 182 до 225 г на начало исследования. Крысы содержались в оптимальных условиях окружающей среды в соответствии с инструкциями по уходу и использованию лабораторных животных [2]. Опыты проводили путем нанесения различных доз препарата в область спины и холки. Животные были разделены на три группы по десять животных в каждой ($n=10$). Крысам первой группы в течение пяти дней на кожу наносили препарат в дозе 0,3 мл/кг, крысам второй группы в течение пяти дней на кожу наносили препарат в дозе 3 мл/кг, а крысы третьей группы были контрольными им на кожу наносили воду в дозе 3 мл/кг. Ежедневно у животных наблюдали за клиническим состоянием, употреблением корма и воды, наличие признаков угнетения или возбуждения. На 6-й день животных взвешивали, умерщвляли и брали кровь для исследования биохимических и гематологических показателей. Опыты проводились согласно с указаниями Международной комиссии по этике животных и узаконенного нравственного комитета, а также в соответствии с действующими правилами. Для исследования были выбраны следующие биохимические параметры крови: общий белок, билирубин, глюкоза, холестерин, мочевины, активность ферментов: аланин- и аспаратаминоминотрансферазы и щелочной фосфатазы. Количество мочевины определяли унифицированным методом с использованием цветной реакции с изонитрозоэтилметилкетонем [14, 16]. Определение глюкозы проводили унифицированным глюкозооксидазным методом по окислению 3,3'-диметилбензидина [20], концентрацию общего холестерина измеряли ферментативным фотометрическим методом [6], концентрация билирубина определялась колориметрическим методом с использованием 2,4-дихлорфениламина [18]. Активность АЛТ и АСТ определялась унифицированным методом с применением реактива Брейди [13, 19]. Активность щелочной фосфатазы изучали с использованием кинетического колориметрического метода [15]. Все исследования проводились в соответствии с Предписаниями гуманного обращения с опытными животными. Все процедуры с животными проводились в соответствии с предписанием 2010/63/US от 22 сентября 2010 г. [7]. Полученные данные исследования обрабатывались с использованием метода вариационной статистики, значимость различий определялась значением t -критерия Стьюдента [5]. Были рассчитаны следующие показатели: среднее арифметическое (M), стандартная ошибка (m) и индекс значимости (p). Значимость различий определялась с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Перманентная токсичность возникает в результате непрерывного ежедневного воздействия вещества. Исследования перманентной токсичности препарата проводят после многократного воздействия. Основной причиной хронической токсичности является постепенное накопление повреждений в одном или нескольких органах-мишенях. Исследования хронической токсичности помогают определить токсикодинамику вводимого препарата, выявить органы-мишени, определить безопасную дозу, определить уровень отсутствия наблюдаемых побочных эффектов и определить обратимость результатов исследования токсичности. Продолжительность введения фармакологического вещества при изучении хронической токсичности зависит от предполагаемой длительности его применения для лечения или профилактики заболеваний животных. Пятидневное введение препарата крысам в дозах 0,3 и 3 мл/кг не вызвало у животных

выраженных токсических явлений. По истечению пяти дней были изучены гематологические и биохимические показатели. Результаты исследований гематологических исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Изменение гематологических показателей крыс после введения препарата циперметрина ($X \pm Sx$, $n=10$)

Показатели	Единица измерения	Контроль	После введения дозы мл/кг ($n=10$)	
			0,3	3
Гемоглобин	г/л	109,2 $\pm$ 3,5	111,1 $\pm$ 4,1	113,6 $\pm$ 5,08
Эритроциты	10 ¹² /л	8,09 $\pm$ 0,31	8,31 $\pm$ 0,32	8,37 $\pm$ 0,33
СОЭ	мм/ч	3,8 $\pm$ 0,21	3,7 $\pm$ 0,17	3,4 $\pm$ 0,38
Лейкоциты	10 ⁹ /л	10,6 $\pm$ 0,54	11,5 $\pm$ 0,52	11,65 $\pm$ 0,68
Базофилы	%	0,6 $\pm$ 0,32	0,41 $\pm$ 0,35	0,8 $\pm$ 0,51
Палочкоядерные нейтрофилы	%	2,0 $\pm$ 0,28	2,0 $\pm$ 0,35	2,1 $\pm$ 0,36
Сегментоядерные	%	26,9 $\pm$ 0,49	27 $\pm$ 0,54	27,2 $\pm$ 0,58
Лимфоциты	%	63,4 $\pm$ 0,54	63,2 $\pm$ 0,61	62,7 $\pm$ 0,85
Моноциты	%	8,6 $\pm$ 0,42	8,6 $\pm$ 0,47	8,9 $\pm$ 0,38
Эозинофилы	%	3,9 $\pm$ 0,49	4,0 $\pm$ 0,63	3,5 $\pm$ 0,72

Примечание: ($P>0,05$)

Анализ результатов, представленных в таблице 1, показал, что после введения препарата наблюдались определенные колебания количества эритроцитов, гемоглобина, СОЭ, количества лейкоцитов и лейкограммы. Однако эти колебания были статистически незначимы по сравнению с контрольной группой. На основании этих результатов можно сделать вывод, что препарат не влияет на гематологические параметры у крыс после повторного введения. Результаты исследований влияния препарата циперметрина на биохимические параметры крови крыс представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Изменение биохимических показателей крови у крыс после кожного нанесения препарата циперметрина ($X \pm Sx$, $n=10$)

Показатели	Единица измерения	Контроль	После введения дозы мл/кг ($n=10$)	
			0,3	3
Общий белок	Г/л	62,32 $\pm$ 0,89	58,2 $\pm$ 1,08	63,91 $\pm$ 1,51
Глюкоза	Ммоль/л	7,54 $\pm$ 0,27	6,65 $\pm$ 0,26	7,71 $\pm$ 0,31
Холестерин	Ммоль/л	3,34 $\pm$ 0,13	2,42 $\pm$ 0,14	3,66 $\pm$ 0,18
Билирубин	Мкмоль/л	34,62 $\pm$ 1,36	32,22 $\pm$ 0,95	36,54 $\pm$ 1,68
Мочевина	Ммоль/л	6,88 $\pm$ 0,31	6,93 $\pm$ 0,27	6,84 $\pm$ 0,32
АсАТ	Ед/л	24,79 $\pm$ 0,87	24,8 $\pm$ 0,7	25,83 $\pm$ 0,72
АлАТ	Ед/л	27,42 $\pm$ 0,72	26,8 $\pm$ 0,55	27,69 $\pm$ 0,49
Щелочная фосфатаза	Ед/л	48,33 $\pm$ 0,79	47,47 $\pm$ 0,69	47,77 $\pm$ 1,34

Примечание: ($P>0,05$)

Анализируя данные, представленные в таблице 2, можно отметить, что в течение 5-дневного эксперимента у животных экспериментальных групп наблюдались некоторые колебания общего белка, глюкозы, билирубина, мочевины и активности ферментов (АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы) после местного применения препарата циперметрина. Однако эти колебания существенно не отличались от таковых в контрольной группе. Следовательно, можно сделать вывод, что препарат не влияет на гематологические и биохимические показатели лабораторных животных и не вызывает признаков угнетения или токсичности после пяти дней применения. Отсутствие существенных изменений после введения препарата указывает на наличие защитного слоя кожи, предотвращающего проникновение лекарственного средства. Роговой слой кожи действует как эффективный барьер, ограничивая проникновение большинства лекарственных средств и препятствуя их прохождению через кожу [23].

Закключение. Таким образом, можно заключить, что препарат циперметрина не вызывает угнетения и интоксикации при применении в течение пяти дней, не обладает хронической токсичностью и не влияет на гематологические и биохимические показатели крови лабораторных крыс.

Список источников

1. Антипина, С. В. Мониторинг качества ветеринарных лекарственных препаратов для парентерального применения / С. В. Антипина, Н. В. Воробьева // Ветеринарный врач. – 2025. – № 1. – С. 7-13. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_1_7. – EDN MVBVVP
2. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами: межгосударственный стандарт: издание официальное: утвержден и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2015 г. № 1733-ст: введен впервые: дата введения 2016-07-01 дата введения 2017-12-01 / разработан некоммерческим партнерством "Объединение специалистов по работе с лабораторными животными" (Rus-LASA). – Москва: Стандартинформ, 2016. – 16 с. – Текст: непосредственный.
3. Мишина Наиля Наримановна, Ямалова Гузалия Рустамовна, Алеев Дамир Вазыхович, Халикова Кадрия Фагимовна, Маланьев Андрей Валериянович, Егоров Владислав Иванович, Хафизова Алсу Магъфуровна Гистологические изменения внутренних органов крыс при экспериментальном отравлении препаратом на основе глифосата и лечении сорбентом на основе β -глюкана // Ветеринарный врач. 2025. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/gistologicheskie-izmeneniya-vnutrennih-organov-krys-pri-eksperimentalnom-otravlenii-preparatom-na-osnove-glifosata-i-lechenii> (дата обращения: 07.08.2025) Gabr G.-A.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев [и др.]; под ред. Р. У. Хабриева. – М.: ЗАО ИИА «Медицина», 2005. – 892 с.
5. Солнцева, О. В. Анализ статистических данных в пакете STATISTICA. Практическое руководство для пользователей / О. В. Солнцева, А. В. Севастьянов. – Ульяновск: ГСХА, 2004. – 43 с. – Текст: непосредственный.
6. Corso G, Papagni F, Gelzo M, Gallo M, Barone R, Graf M, Scarpato N, Dello Russo A. Development and Validation of an Enzymatic Method for Total Cholesterol Analysis Using Whole Blood Spot. J Clin Lab Anal. 2016 Sep;30(5):517-23. doi: 10.1002/jcla.21890. Epub 2015 Oct 29. PMID: 26511311; PMCID: PMC6807098.
7. Directive 2010/63/EU of The European Parliament and of The Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, L 276/52.
8. Gabr G.-A.; Soliman G.-A.; Abdulaziz S.-S.; Al-Kahtani A.-A.; Ali B. E. Teratogenic Effects in rat foetuses subjected to the concurrent in utero exposure to emamectin benzoate insecticide. Pak. J. Biol. Sci. 2015, 18, 333–340. 10.3923/pjbs.2015.333.340
9. Gold L. S.; Slone T. H.; Ames B. N.; Manley N. B.. Pesticide residues in food and cancer risk: A critical analysis. In: Krieger R. L. (ed) Handbook of Pesticide Toxicology, 2nd ed.; California, Academic Press, 2001, pp. 799–844.
10. Huang, X.-J.; Choi, Y.-K.; Im, H.-S.; Yarimaga, O.; Yoon, E.; Kim, H.-S. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. Sensors 2006, 6, 756–782.
11. Langenfeld NJ, Payne LE, Bugbee B (2021) Colorimetric determination of urea using diacetyl monoxime with strong acids. PLoS ONE 16(11): e0259760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259760>.
12. Lendl, B., Krieg, P. & Kellner†, R. Determination of alkaline phosphatase activity in human sera by mid-FTIR spectroscopy. Fresenius J Anal Chem 360, 717–720 (1998). <https://doi.org/10.1007/s002160050788>.
13. Lopez J. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood and David E. Bruns (eds): Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (5th edition): Elsevier, St. Louis, USA, 2012, 2238 pp, 909 illustrations. ISBN: 978-1-4160-6164-9. Indian J Clin Biochem. 2013 Jan;28(1):104–5. doi: 10.1007/s12291-012-0287-7. Epub 2012 Dec 13. PMCID: PMC3547451.
14. Ngashangva, L., Bachu, V., Goswami, P. (2019). Development of new methods for determination of bilirubin. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 162, 272–285
15. Paraiso, L.F.; Paula, L.; Franco, D.L.; Madurro, J.M.; Brito-Madurro, A.G. Bioelectrochemical determination of alanine aminotransferase for the molecular diagnosis of liver diseases. Int. J. Electrochem. Sci. 2014, 9, 1286–1297

16. Shaker G, Zubair M. Peroxidase-Coupled Glucose Method. [Updated 2025 Jun 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK594277/>.
17. Shuklan P, Raj A, Chauhan K, Madan P, Rani S. Systematic Toxicity of Cypermethrin and Alterations in Behavior of Albino Rats. *ACS Omega*. 2023 Apr 10;8(16):14766-14773. doi: 10.1021/acsomega.3c00817. PMID: 37125091; PMCID: PMC10134476.
18. Hamadache M.; Benkortbi O.; Hanini S.; Amrane A.; Khaouane L.; Si Moussa C. A quantitative structure activity relationship for acute oral toxicity of pesticides on rats: validation, domain of application and prediction. *J. Hazard. Mater.* 2016, 303, 28–40. 10.1016/j.jhazmat.2015.09.021.
19. Hussien H.-M.; Abdou H.-M.; Yousef M.-I. Cypermethrin induced damage in genomic DNA and histopathological changes in brain and haematotoxicity in rats: the protective effect of sesame oil. *Brain Res. Bull.* 2013, 92, 76–83. 10.1016/j.brainresbull.2011.10.020.
20. Tao T.-Y.; Wei L. Z.; Yao Y.; Zhang T.; Yang Z. Effect of alpha and theta cypermethrin insecticide on transient outward potassium current in rat hippocampal CA3 neurons. *Pesticide. Biochem. Physiol.* 2008, 90, 1–7. 10.1016/j.pestbp.2007.07.002/
21. Mossa A.-T.; Refaie A. A.; Ramadan A.; Bouajila J. Amelioration of prallethrin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rat by the administration of Origanum Majorana essential oil. *Biomed. Res. Int.* 2013, 2013, 1–11. 10.1155/2013/859085.
22. Eraslan, G., Kanbur, M., Siliğ, Y., Karabacak, M., Soyer Sarica, Z. and Şahin, S. (2016), The acute and chronic toxic effect of cypermethrin, propetamphos, and their combinations in rats. *Environ. Toxicol.*, 31: 1415-1429. <https://doi.org/10.1002/tox.22147>.
23. Yu YQ, Yang X, Wu XF, Fan YB. Enhancing Permeation of Drug Molecules Across the Skin via Delivery in Nanocarriers: Novel Strategies for Effective Transdermal Applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021 Mar 29; 9:646554. doi: 10.3389/fbioe.2021.646554. PMID: 33855015; PMCID: PMC8039394.

References

1. Antipina, S. V. Monitoring the quality of veterinary drugs for parenteral use / S. V. Antipina, N. V. Vorobyova // *Veterinarian*. - 2025. - No. 1. - P. 7-13. - DOI 10.33632/1998-698X_2025_1_7. - EDN MVBVPD.
2. GOST 33216-2014. Guidelines for the care and maintenance of laboratory animals. Rules for the Maintenance and Care of Laboratory Rodents and Rabbits: Interstate Standard: Official Edition: Approved and put into effect by Order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology dated November 9, 2015, No. 1733-st: Introduced for the first time: Date of introduction 07/01/2016 Date of introduction 12/01/2017 / Developed by the non-profit partnership "Association of Specialists in Working with Laboratory Animals" (Rus-LASA). - Moscow: Standartinform, 2016. - 16 p. - Text: direct.
3. Mishina Nailya Narimanovna, Yamalova Guzaliya Rustamovna, Aleev Damir Vazykhovich, Khalikova Kadriya Fagimovna, Malanov Andrey Valeriyovich, Egorov Vladislav Ivanovich, Khafizova Alsou Magfurovna Histological changes in the internal organs of rats during experimental poisoning with a drug based on glyphosate and treatment with a sorbent based on β -glucan // *Veterinarian*. 2025. No. 2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/gistologicheskie-izmeneniya-vnutrennih-organov-krysa-pri-eksperimentalnom-otravlenii-preparatom-na-osnove-glifosata-i-lechenii> (date of access: 07.08.2025 Gabr G.-A.
4. Guide to the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances" / R. U. Khabriev [et al.]; edited by R. U. Khabriev. - M.: ZAO IIA "Medicine", 2005. - 892 p.
5. Solntseva, O. V. Analysis of statistical data in the STATISTICA package. A practical guide for users / O. V. Solntseva, A. V. Sevastyanov. - Ulyanovsk: GSHA, 2004. - 43 p. - Text: direct.
6. Corso G, Papagni F, Gelzo M, Gallo M, Barone R, Graf M, Scarpato N, Dello Russo A. Development and Validation of an Enzymatic Method for Total Cholesterol Analysis Using Whole Blood Spot. *J Clin Lab Anal.* 2016 Sep;30(5):517-23. doi: 10.1002/jcla.21890. Epub 2015 Oct 29. PMID: 26511311; PMCID: PMC6807098.
7. Directive 2010/63/EU of The European Parliament and of The Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, L 276/52.
8. Gabr G.-A.; Soliman G.-A.; Abdulaziz S.-S.; Al-Kahtani A.-A.; Ali B. E. Teratogenic Effects in rat fetuses subject to the concurrent in utero exposure to emamectin benzoate insecticide. *Pak. J Biol. Sci.* 2015, 18, 333–340. 10.3923/pjbs.2015.333.340

9. Gold L.S.; Slone T. H.; Ames B. N.; Manley N. B.. Pesticide residues in food and cancer risk: A critical analysis. In: Krieger R. L. (ed) *Handbook of Pesticide Toxicology*, 2nd ed.; California, Academic Press, 2001, pp. 799–844.
10. Huang, X.-J.; Choi, Y.-K.; Im, H.-S.; Yarimaga, O.; Yoon, E.; Kim, H.-S. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. *Sensors* 2006, 6, 756–782.
11. Langenfeld NJ, Payne LE, Bugbee B (2021) Colorimetric determination of urea using diacetyl monoxime with strong acids. *PLoS ONE* 16(11): e0259760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259760>.
12. Lendl, B., Krieg, P. & Kellner†, R. Determination of alkaline phosphatase activity in human sera by mid-FTIR spectroscopy. *Fresenius J Anal Chem* 360, 717–720 (1998). <https://doi.org/10.1007/s002160050788>.
13. Lopez J. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood and David E. Bruns (eds): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis* (5th edition): Elsevier, St. Louis, USA, 2012, 2238 pp, 909 illustrations. ISBN: 978-1-4160-6164-9. *Indian J Clin Biochem.* 2013 Jan;28(1):104–5. doi:10.1007/s12291-012-0287-7. Epub 2012 Dec 13. PMID: PMC3547451.
14. Ngashangva, L., Bachu, V., Goswami, P. (2019). Development of new methods for determination of bilirubin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 162, 272-285
15. Paraiso, L.F.; Paula, L.; Franco, D. L.; Madurro, J. M.; Brito-Madurro, A.G. Bioelectrochemical determination of alanine aminotransferase for the molecular diagnosis of liver diseases. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2014, 9, 1286–1297
16. Shaker G, Zubair M. Peroxidase-Coupled Glucose Method. [Updated 2025 Jun 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK594277/>.
17. Shuklan P, Raj A, Chauhan K, Madan P, Rani S. Systematic Toxicity of Cypermethrin and Alterations in Behavior of Albino Rats. *ACS Omega.* 2023 Apr 10;8(16):14766-14773. doi: 10.1021/acsomega.3c00817. PMID: 37125091; PMID: PMC10134476.,
18. Hamadache M.; Benkortbi O.; Hanini S.; Amran A.; Khaouane L.; Si Moussa C. A quantitative structure of activity relationship for acute oral toxicity of pesticides on rats: validation, domain of application and prediction. *J. Hazard. Mater.* 2016, 303, 28–40. 10.1016/j.jhazmat.2015.09.021.
19. Hussien H.-M.; Abdou H.-M.; Yousef M.-I. Cypermethrin induced damage in genomic DNA and histopathological changes in brain and haematotoxicity in rats: the protective effect of sesame oil. *Brain Res. Bull.* 2013, 92, 76–83. 10.1016/j.brainresbull.2011.10.020.
20. Tao T.- Y.; Wei L.Z.; Yao Y.; Zhang T.; Yang Z. Effect of alpha and theta cypermethrin insecticide on transient outward potassium current in rat hippocampal CA3 neurons. *Pesticide. Biochem. Physiol.* 2008, 90, 1–7. 10.1016/j.pestbp.2007.07.002/
21. Mossa A.-T.; Refaie A. A.; Ramadan A.; Bouajila J. Amelioration of prallethrin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rat by the administration of Origanum Majorana essential oil. *Biomed. Res. Int.* 2013, 2013, 1–11. 10.1155/2013/859085.
22. Eraslan, G., Kanbur, M., Siliğ, Y., Karabacak, M., Soyer Sarica, Z. and Şahin, S. (2016), The acute and chronic toxic effect of cypermethrin, propetamphos, and their combinations in rats. *Environ. Toxicol.*, 31: 1415–1429. <https://doi.org/10.1002/tox.22147>.
23. Yu YQ, Yang X, Wu XF, Fan YB. Enhancing Permeation of Drug Molecules Across the Skin via Delivery in Nanocarriers: Novel Strategies for Effective Transdermal Applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021 Mar 29; 9:646554. doi: 10.3389/fbioe.2021.646554. PMID: 33855015; PMID: PMC8039394.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 23.04.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 29 – 34
The Veterinarian. 2026; (3): 29 – 34

Научная статья

УДК 619.615.2/661.155.3

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_29

ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕЧЕНИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ МИКОТОКСИКОЗЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ

Евгения Юрьевна Тарасова, кандидат биологических наук, evgenechka1885@mail.ru

Светлана Анатольевна Танасева, кандидат биологических наук, s-tanaseva@mail.ru

Лилия Евгеньевна Матросова, доктор биологических наук, M.Lilia.Evg@yandex.ru

Алмаз Рафаильевич Валиев, кандидат биологических наук, varalmaz@yandex.ru

Глеб Сергеевич Кашеваров, кандидат биологических наук, kaschewarow@mail.ru

Эдуард Ильясович Семёнов, доктор ветеринарных наук, semyonovei@bk.ru

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Евгения Юрьевна Тарасова.

Аннотация. Целью работы являлась оценка влияния различных профилактических комплексов (на основе сорбентов, гепатопротекторов, антиоксидантов и иммуномодуляторов) на органомерическое состояние печени цыплят-бройлеров при сочетанном воздействии Т-2 токсина, афлатоксина В1 и зеараленона. Исследования проведены на цыплятах-бройлерах кросса «Кобб 500» (возраст 20-21 сут.). Методом групп-аналогов сформировано 6 групп (по 6 голов в каждой). Дизайн исследования включал следующие группы: биологический контроль (БК), токсический контроль (ТК, смесь Т-2 токсина, афлатоксина В1 и зеараленона) и группы с использованием профилактических комплексов (ПК1 и ПК2) на фоне токсичного и основного рационов. Длительность эксперимента составила 21 сутки. В ходе опыта оценивались динамика живой массы, абсолютная масса печени и её индекс. Установлено, что воздействие микотоксинов (группа ТК) сопровождалось достоверным угнетением интенсивности роста: живая масса цыплят-бройлеров снизилась на 21,8 % ($p < 0,001$) относительно биологического контроля. Одновременно регистрировалось развитие выраженной гепатомегалии - индекс печени превысил контрольные значения на 50,7 % ($p < 0,001$), что является объективным признаком токсического поражения органа и служит косвенным подтверждением развития патологических изменений в паренхиме печени. Применение исследуемых комплексов в условиях интоксикации смягчило негативные эффекты. Наибольшую эффективность продемонстрировал профилактический комплекс ПК2. Его применение на фоне токсической нагрузки обеспечило снижение массы печени на 11,2 % относительно группы ТК, при этом отклонение индекса печени от физиологической нормы сократилось до 13,7 %. В группе БК+ПК2 (без микотоксинов) зафиксирована оптимизация обменных процессов: достигнута максимальная живая масса цыплят при снижении индекса печени на 6,2 % относительно биологического контроля, что указывает на повышение функциональной эффективности органа.

Ключевые слова: печень, индекс печени, интоксикация, гепатопротекторы, живая масса, профилактические комплексы, токсическая нагрузка

Для цитирования: Тарасова Е. Ю., Танасева С. А., Матросова Л. Е., Валиев А. Р., Кашеваров Г. С., Семёнов Э. И. Органометрические показатели печени цыплят-бройлеров при микотоксикозе на фоне применения профилактических комплексов // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 29 – 34. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_29

ORGANOMETRIC INDICATORS OF BROILER CHICKEN LIVER IN CASE OF MYCOTOXICOSIS AGAINST THE BACKGROUND OF THE USE OF PREVENTIVE COMPLEXES

Evgeniya Yu. Tarasova, candidate of Biological Sciences, evgenechka1885@mail.ru

Svetlana A. Tanaseva, candidate of Biological Sciences, s-tanaseva@mail.ru

Lilia E. Matrosova, doctor of Biological Sciences, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*
 Almaz R. Valiev, candidate of Biological Sciences, *varalmaz@yandex.ru*
 Gleb S. Kashevarov, candidate of Biological Sciences, *kaschewarow@mail.ru*
 Eduard I. Semyonov, doctor of Veterinary Sciences, *semyonovei@bk.ru*

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Evgeniya Yurievna Tarasova.

Abstract. The aim of the work was to assess the effect of various preventive complexes (based on sorbents, hepatoprotectors, antioxidants, and immunomodulators) on the organometric state of the liver of broiler chickens under the combined effect of T-2 toxin, aflatoxin B1, and zearalenone. The studies were conducted on broiler chickens of the "Cobb 500" cross (age 20-21 days). Six groups (with 6 chickens in each group) were formed using the analog group method. The study design included the following groups: biological control (BC), toxic control (TC, a mixture of T-2 toxin, aflatoxin B1, and zearalenone), and groups using preventive complexes (PC1 and PC2) against the background of toxic and basic diets. The duration of the experiment was 21 days. During the experiment, the dynamics of live weight, absolute liver weight, and liver index were evaluated. It was found that the exposure to mycotoxins (TC group) was accompanied by a significant decrease in growth rate: the live weight of broiler chickens decreased by 21.8% ($p < 0.001$) compared to the biological control. At the same time, the development of pronounced hepatomegaly was recorded - the liver index exceeded the control values by 50.7% ($p < 0.001$), which is an objective sign of toxic damage to the organ and serves as an indirect confirmation of the development of pathological changes in the liver parenchyma. The use of the studied complexes in conditions of intoxication mitigated the negative effects. The most effective was the preventive complex PC2. Its use against the background of a toxic load ensured a decrease in liver weight by 11.2% relative to the TC group, while the deviation of the liver index from the physiological norm was reduced to 13.7%. In the BC+PC2 group (without mycotoxins), the optimization of metabolic processes was recorded: the maximum live weight of chickens was achieved with a decrease in the liver index by 6.2% relative to the biological control, which indicates an increase in the functional efficiency of the organ.

Keywords: liver, liver index, intoxication, hepatoprotectors, live weight, preventive complexes, and toxic load

Введение. В процессе жизнедеятельности микромицеты, контаминирующие растительное сырье, синтезируют вторичные метаболиты, объединяемые в группу микотоксинов. Данные соединения обладают выраженной токсичностью в отношении животных и человека и представляют серьезную угрозу для продовольственной безопасности. Контаминация сельскохозяйственных культур микотоксинами может происходить на различных этапах производственного цикла: в полевых условиях - в период вегетации растений под воздействием фитопатогенных грибов; на этапах послеуборочной обработки и переработки сырья; а также в процессе хранения готовой продукции и кормов при несоблюдении оптимальных температурно-влажностных параметров [1]. Особую угрозу представляют такие распространенные токсиканты, как зearаленон, афлатоксин B1 и T-2 токсин. Даже малые дозы этих соединений, не вызывающие мгновенной гибели, ведут к существенным экономическим потерям: снижению конверсии корма и росту заболеваемости из-за подавления иммунитета [2].

Птицеводство является наиболее уязвимой отраслью животноводства в контексте микотоксикозов. Интенсивный метаболизм современных высокопродуктивных кроссов обуславливает их высокую чувствительность даже к следовым концентрациям ядов.

Афлатоксин B1 – один из самых опасных гепатотропных токсинов, который преимущественно поражает печень. Этот микотоксин, вырабатываемый плесневыми грибами рода *Aspergillus* (чаще всего в условиях высокой влажности и тепла при хранении кормов), вызывает жировую дистрофию и некроз гепатоцитов. Основным механизмом токсичности заключается в связывании с ДНК и РНК клеток печени, что приводит к блокаде синтеза белков, нарушению метаболизма и апоптозу (программированной смерти) клеток. В клинической картине у птиц это проявляется выраженными нарушениями: у несушек наблюдается резкое снижение продуктивности – падает яйценоскость, ухудшается качество скорлупы (становится тонкой, пористой или деформированной из-за дефицита кальция и белков), а также возрастает смертность. У бройлеров афлатоксин замедляет прирост живой массы на 20-50 %, вызывает иммуносупрессию, делая птицу уязвимой к инфекциям, и провоцирует нарушение пигментации – перья, кожа и желток яиц теряют яркость (например, из-за снижения уровня кароти-

ноидов). Долгосрочное воздействие усугубляется накоплением токсина в печени, что может привести к хроническим заболеваниям и полной потере стада [3, 4].

Зеараленон – микотоксин с выраженным эстрогенным эффектом, производимый грибами *Fusarium* в зерновых кормах при высокой влажности. Он имитирует действие эстрогенов, связываясь с рецепторами в репродуктивных органах, что приводит к дезорганизации эндокринной и репродуктивной систем у птиц. Это вызывает гормональный дисбаланс: гиперплазию матки (увеличение яйцевода), отёк тканей и нарушение овуляции.

Последствия особенно критичны для несушек: (аномалии формирования яйца: яйца становятся деформированными, с тонкой скорлупой, неровной формой или без желтка; снижается яйценоскость на 15-30 %; риск выпадения яйцевода (пролапс) из-за гипертрофии матки и мышечной слабости яйцевод может выпасть наружу, что часто приводит к инфекциям, каннибализму и гибели птицы (до 10–20 % стада); этологические изменения: птицы проявляют аномальное поведение - повышенную агрессию, апатию, каннибализм или "ложную кладку" (попытки нести яйца без полноценного формирования)).

У бройлеров зеараленон замедляет рост и снижает конверсию корма. В комбинации с другими микотоксинами (например, афлатоксином) эффект усиливается [5]. Т-2 токсин, относящийся к группе трихотеценовых микотоксинов, вызывает у птицы выраженные поражения слизистых оболочек, по тяжести и характеру сопоставимые с химическими ожогами, а также нарушает клеточный метаболизм за счет ингибирования синтеза белка, ДНК и РНК, усиления образования активных форм кислорода и запуска апоптоза клеток. Патогномичным признаком Т-2-микотоксикоза у птиц считается выраженный язвенно-некротический стоматит: в области клюва, языка, нёба и углов рта формируются болезненные эрозии, желтоватые налёты и некротические участки, иногда с кровоточивостью и зловонным запахом. Эти поражения сопровождаются снижением или отказом от корма, угнетением, потерей массы тела, а также могут сочетаться с некротическими изменениями слизистой зоба и кишечника, угнетением кроветворения и иммунодефицитом, что повышает восприимчивость птицы к вторичным инфекциям и усугубляет клиническое течение заболевания [6-8].

В современных условиях наибольшее значение имеет не изолированное действие отдельного микотоксина, а их совместное влияние. При одновременном поступлении в организм афлатоксина В1, зеараленона и Т-2 токсина их токсический потенциал проявляется не просто как сумма отдельных эффектов, а реализуется по принципу выраженной синергии, когда общая повреждающая активность многократно возрастает по сравнению с действием каждого вещества в отдельности [9].

При сочетанном микотоксикозе система профилактики должна опираться на принцип мультифункционального воздействия, то есть одновременно решать несколько патогенетически значимых задач, а не ограничиваться лишь простым связыванием токсинов в просвете кишечника. Для эффективной защиты целесообразно использовать средства, которые способны не только адсорбировать широкий спектр микотоксинов, но и снижать их биодоступность, токсическое действие на органы-мишени и опосредованный оксидативный и воспалительный ответ.

Для инактивации структурно более сложных соединений, таких как Т-2 токсин и зеараленон, обосновано применение органических сорбентов на основе глюкоманнанов (в том числе компонентов клеточной стенки дрожжей), характеризующихся высокой аффинностью к этим ксенобиотикам и способностью снижать их всасывание и депонирование в тканях. Одновременно включение в рацион антиоксидантов и гепатопротекторов позволяет уменьшить выраженность оксидативного стресса, поддержать белковосинтезирующую функцию печени, стабилизировать клеточные мембраны и тем самым восстановить общие барьерные и детоксикационные функции организма, что особенно важно при одновременном воздействии нескольких микотоксинов.

Целью работы являлась оценка влияния различных профилактических комплексов (на основе сорбентов, гепатопротекторов, антиоксидантов и иммуномодуляторов) на органометрическое состояние печени цыплят-бройлеров при сочетанном воздействии Т-2 токсина, афлатоксина В1 и зеараленона. Для достижения поставленной цели изучали влияние разработанных профилактических комплексов на органометрические параметры печени (абсолютную и относительную массу, макроскопическую характеристику) и динамику живой массы цыплят-бройлеров как интегральный показатель продуктивности.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводились на цыплятах-бройлерах кросса «Кобб 500» (возраст 20-21 сут.; живая масса 0,8-0,9 кг). Для проведения опыта по принципу групп-аналогов было сформировано 6 групп птицы, по 6 голов в каждой. Продолжительность эксперимента составила 21 сутки.

Подопытная птица содержалась в одинаковых микроклиматических условиях при свободном доступе к воде и корму. Рационы групп различались по наличию токсического фактора и виду профилактических добавок: БК - Биологический контроль (основной рацион - комбикорм «Финиш СНИСК»); ТК - Токсический контроль (Т-2 токсин - 2,5 мг/кг; афлатоксин В1 - 3,3 мг/кг; зеараленон - 1,7 мг/кг); ТК+ПК1 - токсичный рацион с введением профилактического комплекса №1 (β-глюканы, шрот расторопши, витамины Е и С, левамизол); ТК+ПК2 – токсичный рацион с введением профилактического комплекса №2 (бентонит, янтарная кислота, метилурацил, витамин А, пробиотик «Флорин»); БК+ПК1 - основной рацион с добавкой ПК1; БК+ПК2 - основной рацион с добавкой ПК2.

В ходе опыта контролировали следующие параметры: органомерические показатели (в конце опыта проводили контрольный убой по 3 голов из каждой группы для определения массы печени) и индекса органа (рассчитывали, как процентное отношение массы печени к живой массе птицы в конце опыта).

Статистический анализ данных выполняли следующим образом. Для характеристики групп использовали описательные статистики (среднее значение и стандартное отклонение, $M \pm SD$). Для выявления межгрупповых различий использовали U-критерий Манна-Уитни с поправкой р по методу Бонферрони для множественных сравнений (критический уровень значимости установили как $p < 0,05$). Статистическую обработку проводили в программах Statistica 6.0 и MS Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Высокая чувствительность цыплят-бройлеров к микотоксинам обусловлена особенностями их физиологического статуса: интенсивный рост и напряженный метаболизм создают условия, при которых даже субтоксические дозы ксенобиотиков способны инициировать каскад патологических реакций. Первичной мишенью токсического воздействия выступает печень - центральный орган детоксикации и метаболического гомеостаза. Повреждение гепатоцитов, проявляющееся в виде дистрофических и некротических изменений, закономерно приводит к снижению синтетической функции органа, нарушению обменных процессов и, как следствие, к резкому падению продуктивных показателей птицы. Анализ морфометрических параметров печени выявил характерные изменения, отражающие реакцию организма цыплят-бройлеров на токсическую нагрузку (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние профилактических комплексов на морфометрические показатели печени цыплят-бройлеров при экспериментальном микотоксикозе

Группа	Показатель				
	Средняя живая масса в конце опыта, г	Масса печени, г	Индекс печени (к массе тела), %	Отклонение индекса печени от нормы (БК), %	Снижение массы печени относительно ТК, %
БК	3085,0±81,54	44,96±0,69	1,46±0,05	-	-
ТК	2411,65±151,84**	52,99±0,34***	2,20±0,11***	+50,7	-
ТК+ПК1	2727,02±141,18	49,88±0,55*	1,84±0,09*	+26,0	-5,8
ТК+ПК2	2717,93±154,73	47,05±0,70	1,66±0,06*	+13,7	-11,2
БК+ПК1	3076,67±158,76	45,15±0,44	1,47±0,04	+0,7	-
БК+ПК2	3073,33±70,18	45,30±0,26	1,37±0,03	-6,2	-
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ в сравнении с биологическим контролем выявлены различия					

Масса печени является чувствительным индикатором токсической нагрузки. В группе ТК наблюдается максимальное статистически значимое отклонение этого показателя от биологического контроля, что указывает на развитие компенсаторной гипертрофии органа в ответ на токсины.

Применение добавок (ТК+ПК1 и ТК+ПК2) снизило массу печени до 49,88 г и 47,05 г соответственно, что говорит о частичной нейтрализации негативного влияния токсинов. В группах с основным рационом (БК, БК+ПК1, БК+ПК2) масса печени оставалась стабильной в пределах 44,9-45,3 г, что подтверждает отсутствие патологической нагрузки на орган при использовании данных добавок.

Относительная масса печени (в % к массе тела) рассматривается как объективный и чувствительный показатель функционального состояния этого органа при токсикологических воздействиях. В группе токсического контроля отмечено достоверное увеличение данного индекса ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, что указывает на развитие гепатомегалии за счет выраженного отека паренхимы или жировой дистрофии печени на фоне интоксикации. Включение в рацион ПК3 позволило снизить этот показатель до 1,66 % ($p < 0,05$), что значительно ближе к физиологической

норме. Интересно, что в группе БК+ПК2 отмечен самый низкий индекс печени (1,37 %). Это может указывать на то, что на фоне самого высокого прироста массы тела орган работает максимально эффективно и без признаков гипертрофии.

Анализ индекса печени (отношение массы органа к массе тела) выявил критическое напряжение детоксикационной системы в группе ТК, где показатель достоверно превысил контроль на 50,7 % ($p < 0,001$). Введение комплекса ПК2 в токсичный рацион позволило снизить этот разрыв до 13,7 % ($p < 0,05$), что демонстрирует выраженный гепатопротекторный эффект. В группе БК+ПК2 индекс печени оказался даже ниже контрольных значений на 6,2% (при самой высокой живой массе в опыте), что может указывать на оптимизацию метаболизма и более эффективную работу печени без необходимости увеличения её объема.

Для углубленного анализа состояния печени как органа-мишени был рассчитан коэффициент гипертрофии печени (относительно контроля БК), который наглядно демонстрирует, насколько увеличилась нагрузка на орган под влиянием токсинов. Так в группе ТК наблюдается истинная гипертрофия: масса печени выше контроля на 17,8 % ($p < 0,001$), при этом относительный индекс (на единицу массы тела) вырос на 50,7 % ($p < 0,001$), что подтверждает патологическое состояние органа. В группе ТК+ПК2 избыточная масса печени составила всего 4,6% к контролю, что свидетельствует о существенном снижении воспалительных процессов или жировой инфильтрации. Расчет эффективности снижения токсической нагрузки (в сравнении с ТК) показывает, насколько добавка «разгружает» печень по сравнению с группой без коррекции: ПК1 снижает абсолютную массу печени на 5,8% (относительно ТК) и ПК2 - на 11,2% (относительно ТК).

Группы БК+ПК1 и БК+ПК2 не показали статистически значимых отклонений от биологического контроля по живой массе и массе печени. Индекс печени оставался в пределах физиологической нормы (отклонение +0,7% и -6,2% соответственно). Таким образом, комплекс ПК2 обладает выраженными гепатопротекторными свойствами, способствуя детоксикации организма и восстановлению ростовых показателей птицы. Препарат повышает функциональный резерв печени даже на фоне полноценного рациона, характеризуется безопасностью и после дальнейших всесторонних исследований может быть рекомендован для коррекции метаболических нарушений при микотоксикозах.

Заключение. Показано, что в условиях выраженного токсического поражения печени и снижения прироста живой массы птицы комплекс ПК2 оказывает наиболее выраженное защитное действие, способствуя восстановлению органомерических показателей печени. На фоне его применения отмечается восстановление размеров и относительной массы органа до величин, близких к физиологическим, что указывает на эффективное купирование последствий микотоксической нагрузки и частичное восстановление функциональной активности гепатоцитов.

Полученные результаты позволяют рассматривать ПК2 не только как комплекс, эффективно нивелирующий последствия интоксикации, но и как фактор, повышающий функциональный резерв органов детоксикации на фоне включения в основной рацион, без проявления токсичности или отрицательного влияния на продуктивность. С учетом продемонстрированной безопасности и выраженного протекторного потенциала, данный комплекс после проведения дополнительных исследований может быть рекомендован в качестве перспективного инструмента для коррекции метаболических нарушений и структурно-функциональных изменений печени при микотоксикозах у птицы.

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта, предоставленного Академией наук Республики Татарстан образовательным организациям высшего образования, научным и иным организациям на поддержку планов развития кадрового потенциала в части стимулирования их научных и научно-педагогических работников к защите докторских диссертаций и выполнению научно-исследовательских работ (Соглашение от 22.12.2025 № 4/2025-ПД-ВНИВИ).

Список источников

1. A case of laying hens mycosis caused by *Fusarium proliferatum* / R. M. Potekhina, E. Yu. Tarasova, L. E. Matrosova [et al.] // *Veterinary Medicine International*. – 2023. – Vol. 2023. – P. 5281260. – DOI 10.1155/2023/5281260.
2. Перфилова, К. В. Эффективность средства "Цеапитокс" в предотвращении негативных последствий Т-2 токсикоза / К. В. Перфилова, Н. Н. Мишина // *Вестник Чувашского государственного аграрного университета*. – 2022. – № 2(21). – С. 54-57. – DOI 10.48612/vch/ktpn-53zz-d64d.
3. Evaluation of effectiveness of a novel multicomponent mycotoxins detoxification agent in the presence of AFB1 and T-2 toxin on broiler chicks / D. Stefanović, D. Marinković, S. Trailović [et al.] // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11. – P. 574. – DOI 10.3390/microorganisms11030574.

4. An integrated mycotoxin-mitigating agent can effectively mitigate the combined toxicity of AFB1, DON and OTA on the production performance, liver and oviduct health in broiler breeder hens / M. Ruan, J. Wang, Z. Xia // *Food and Chemical Toxicology*. – 2023. – Vol. 182. – P. 114159. – DOI 10.1016/j.fct.2023.114159.
5. Effects of Zearalenone on Production Performance, Egg Quality and Ovarian Function in Laying Hens / T. Yuan, J. Li, Y. Wang et al. // *Toxins*. – 2022. – Vol. 14(10). – P. 653. – DOI 10.3390/toxins14100653.
6. Effects of supplemented multicomponent mycotoxin detoxifying agent in laying hens fed aflatoxin B1 and T2-toxin contaminated feeds / J. Raj, H. Farkaš, Z. Jakovčević [et al.] // *Poultry Sci.* – 2023. – Vol. 102. – P. 102795. – DOI 10.1016/j.psj.2023.102795.
7. Применение энтеросорбентов в животноводстве / К. Х. Папуниди, М. Я. Трemasов, А. А. Иванов [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2010. – № 5. – С. 20-22.
8. Мишина, Н. Н. Изучение хронической токсичности кормовой добавки «Комплисорбин» на кроликах / Н. Н. Мишина // *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова*. – 2023. – № 4(73). – С. 80-87. – DOI 10.34655/bgsha.2023.73.4.010.
9. Изучение защитного действия профилактических комплексов на ультраструктуру гепатоцитов кроликов при сочетанном микотоксикозе / Е. Ю. Тарасова, Г. С. Кашеваров, В. Р. Сaitов [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2023. – № 1. – С. 57-63. – DOI 10.33632/1998-698X_2023_1_57.

References

1. A case of laying hens mycosis caused by *Fusarium proliferatum* / R. M. Potekhina, E. Yu. Tarasova, L. E. Matrosova [et al.] // *Veterinary Medicine International*. – 2023. – Vol. 2023. – P. 5281260. – DOI 10.1155/2023/5281260.
2. Perfilova, K. V. The Effectiveness of the Product "Ceapitox" in Preventing the Negative Effects of T-2 Toxicosis / K. V. Perfilova, N. N. Mishina // *Bulletin of the Chuvash State Agrarian University*. – 2022. – № 2(21). – P. 54-57. – DOI 10.48612/vch/ktpn-53zz-d64d.
3. Evaluation of effectiveness of a novel multicomponent mycotoxins detoxification agent in the presence of AFB1 and T-2 toxin on broiler chicks / D. Stefanović, D. Marinković, S. Trailović [et al.] // *Microorganisms*. – 2023. – 11. – P. 574. – DOI 10.3390/microorganisms11030574
4. An integrated mycotoxin-mitigating agent can effectively mitigate the combined toxicity of AFB1, DON and OTA on the production performance, liver and oviduct health in broiler breeder hens / M. Ruan, J. Wang, Z. Xia // *Food and Chemical Toxicology*. – 2023. – Vol. 182. – P. 114159. – DOI 10.1016/j.fct.2023.114159.
5. Effects of Zearalenone on Production Performance, Egg Quality and Ovarian Function in Laying Hens / T. Yuan, J. Li, Y. Wang et al. // *Toxins*. – 2022. – Vol. 14(10). – P. 653. – DOI 10.3390/toxins14100653.
6. Effects of supplemented multicomponent mycotoxin detoxifying agent in laying hens fed aflatoxin B1 and T2-toxin contaminated feeds / J. Raj, H. Farkaš, Z. Jakovčević [et al.] // *Poultry Sci.* – 2023. – 102. Article 102795, 10.1016/j.psj.2023.102795
7. Application of enterosorbents in animal husbandry / K. H. Papunidi, M. Ya. Tremasov, A. A. Ivanov [et al.] // *The Veterinarian*. – 2010. – № 5. – P. 20-22.
8. Mishina, N. N. Study of the chronic toxicity of the feed additive "Komplisorbin" on rabbits / N. N. Mishina // *Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V. R. Filippov*. – 2023. – № 4(73). – P. 80-87. – DOI 10.34655/bgsha.2023.73.4.010.
9. Study of the protective effect of prophylactic complexes on the ultrastructure of rabbits hepatocytes with combined mycotoxicosis / E. Yu. Tarasova, G. S. Kashevarov, V. R. Saitov [et al.] // *The veterinarian*. – 2023. – № 1. – P. 57-63. – DOI 10.33632/1998-698X_2023_1_57.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 01.04.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 35 – 41
The Veterinarian. 2026; (3): 35 – 41

Научная статья
УДК 619: 638.12
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_35

ОЦЕНКА СПОСОБОВ ЭКСТРАКЦИИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ФИПРОНИЛА В ПОДМОРЕ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ

Айсылу Завдатова Мухарлямова, кандидат биологических наук, *muharlyamova82@mail.ru*
Айгуль Габделнуровна Мухамметшина, *aika.muha@yandex.ru*
Камиль Маратович Ишкаев, *fizhimlab5@yandex.ru*
Александр Маратович Сайфутдинов, кандидат химических наук, *alex.saifutdinov@gmail*.
Эдуард Артурович Сагдеев, *giggles.kzn@gmail*
Константин Евгеньевич Буркин, кандидат технических наук, *konstantinburkin@yandex.ru*
Сания Латфулловна Мохтарова, *fizhimlab5@yandex.ru*

Федеральный Центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань,
Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Айсылу Завдатовна Мухарлямова.

Аннотация. Инсектицидные обработки сельскохозяйственных культур неизбежно приводят к наличию остатков ядохимикатов, что наносит огромный вред не только пчелам, а также через продукцию пчеловодства могут представлять угрозу и для здоровья человека. Одним из активных химических компонентов состава инсектицидных препаратов достаточно широко применяемым в сельском хозяйстве является фипронил. Определение фипронила в образцах пчелиного подмора – задача достаточно сложная и трудоемкая для практической реализации. Это связано, во-первых, со следовыми количествами искомого пестицида, во-вторых, со сложным химическим составом матрицы, который может мешать идентификации пиков на стадии хроматографического анализа, и в-третьих, с отсутствием нормативной документации по проведению исследований данного биоматериала. В настоящей работе для определения остаточных количеств фипронила в образцах пчелиного подмора было апробировано два способа экстракции. Сравнивали экстракцию малополярным растворителем с последующей стадией очистки твердофазной экстракцией и экстракцию сильнополярным растворителем по способу QuEChERS. Количественное определение фипронила проводили методом газовой хроматографии с электрон-захватным детектором. Предложенный в этом исследовании подход QuEChERS для экстракции фипронила из пчелиного подмора показал наиболее удовлетворительные результаты как с точки зрения эффективности очистки, так и с точки зрения степени извлечения искомого инсектицида. Пробоподготовка QuEChERS хорошо зарекомендовала себя как самый быстрый, простой и удобный способ для определения большинства пестицидов, в том числе фипронила.

Ключевые слова: фипронил, газовая хроматография, пчелы, экстракция

Для цитирования: Мухарлямова А. З., Мухамметшина А. Г., Ишкаев К. М., Сайфутдинов А. М., Сагдеев Э. А., Буркин К. Е., Мохтарова С.Л. Оценка способов экстракции при определении фипронила в подморе медоносных пчел // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 35 – 41. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_35

EVALUATION OF EXTRACTION METHODS FOR THE DETERMINATION OF FIPRONIL IN THE PODORA OF HONEY BEES

Aisylu Z. Mukharlyamova, candidate of biological sciences, *muharlyamova82@mail.ru*
Aigul G. Mukhammetshina, *aika.muha@yandex.ru*
Kamil M. Ishkaev, *fizhimlab5@yandex.ru*
Alexander M. Sayfutdinov, candidate of chemical sciences, *alex.saifutdinov@gmail*
Eduard A. Sagdeev, *giggles.kzn@gmail*
Konstantin E. Burkin, candidate of technical sciences, *konstantinburkin@yandex.ru*

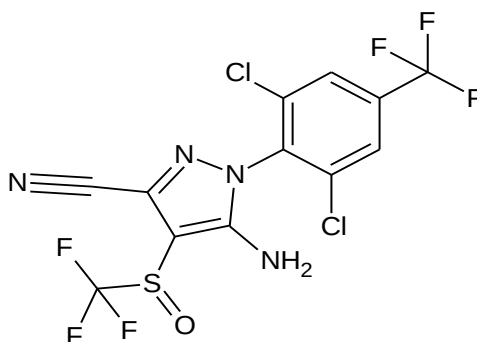
Corresponding author: Aisylu Zavdatovna Mukharlyamova.

Abstract. Insecticidal treatments of agricultural crops inevitably lead to the presence of toxic residues, which causes great harm not only to bees, but also through bee products can pose a threat to human health. One of the active chemical components of the composition of insecticidal preparations widely used in agriculture is fipronil. The determination of fipronil in bee pollen samples is a rather difficult and time-consuming task for practical implementation. This is due, firstly, to trace amounts of the desired pesticide, secondly, to the complex chemical composition of the matrix, which may interfere with the identification of peaks at the stage of chromatographic analysis, and thirdly, to the lack of regulatory documentation for conducting research on this biomaterial. In this work, two extraction methods were tested to determine the residual amounts of fipronil in bee pollen samples. Extraction with a low-polar solvent followed by a purification step by solid-phase extraction and extraction with a highly polar solvent using the QuEChERS method were compared. Quantitative determination of fipronil was carried out by gas chromatography with an electron capture detector. The QuEChERS approach proposed in this study for the extraction of fipronil from bee pollen has shown the most satisfactory results both in terms of purification efficiency and in terms of the degree of extraction of the desired insecticide. QuEChERS sample preparation has proven to be the fastest, easiest, and most convenient way to detect most pesticides, including fipronil.

Keywords: fipronil, gas chromatography, bees, extraction

Введение. Фипронил (5-амино-1-(2,6-дихлор- α,α,α -трифтор-*p*-толил)-4-трифторметилсульфинил-пиразол-3-карбонитрил) – фенилпиразольный акарицид (рис. 1), часто применяется в сельском хозяйстве для борьбы с вредителями, особо эффективен против вредителей из отряда жесткокрылых и прямокрылых, а также почвообитающих вредителей. К сожалению уничтожающее действие фипронила распространяется и на полезных насекомых. Ситуация усугубляется тем, что данный инсектицид проявляет высокую токсичность для медоносных пчел, нарушая ряд фундаментальных биологических процессов в их организме, в результате которых насекомое становится недееспособным или погибает. Пчелы являются чувствительными насекомыми к пестицидам инсектицидного ряда. Для пчел 48 – часовая летальная доза фипронила (ЛД₅₀) составляет 0,00417 мкг на особь. Механизм действия фипронила связан с блокировкой гамма-аминомасляной кислоты, что в свою очередь приводит к нарушению функции нервной системы [1 - 3].

Рисунок 1 – Структурная формула фипронила



Для определения остаточных количеств фипронила в таких сложных матрицах как пчелиный подмор необходимы высокочувствительные, точные и надежные методы. К основным методам определения относят газовую хроматографию в сочетании с электрон-захватным, азотно-фосфорным или масс-спектрометрическим детектированием, также жидкостную хроматографию с масс-спектрометрической детекцией [4, 5].

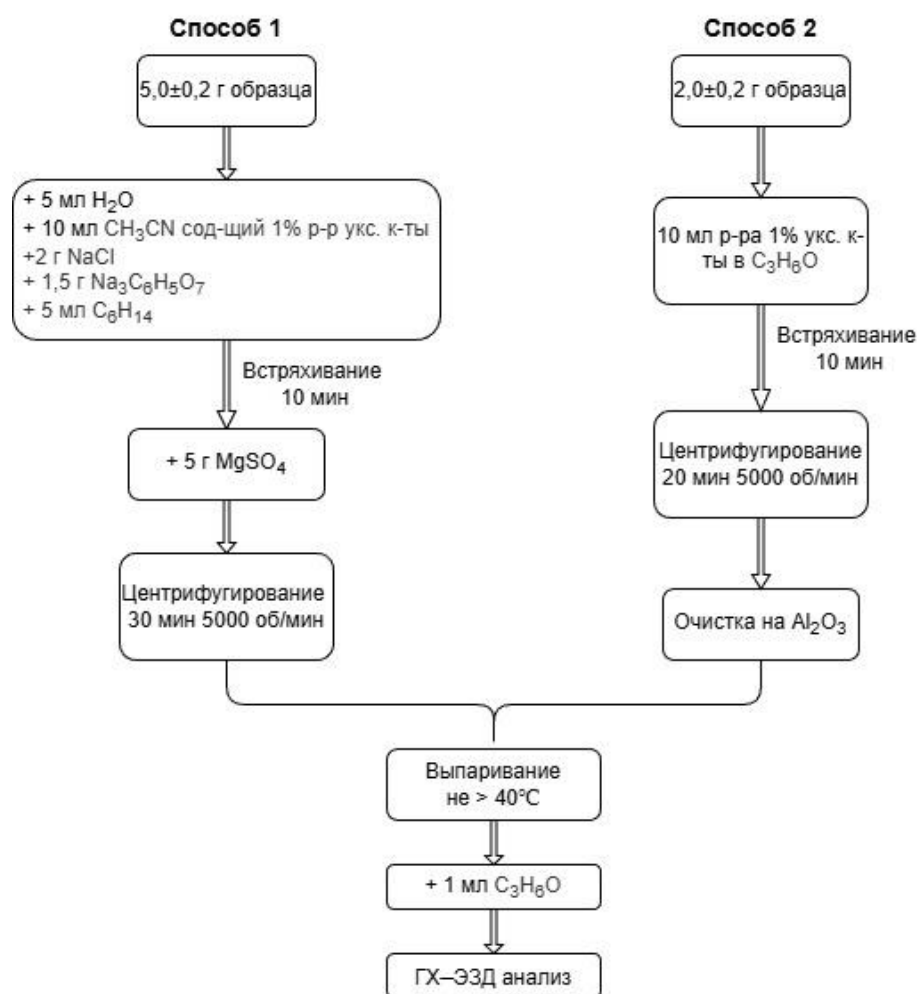
Эффективная и правильно подобранная пробоподготовка образцов пчелиного подмора может увеличить точность определения остаточных количеств искомых соединений. Как правило, применяемый метод экстракции зависит от объекта исследования и физико-химических свойств извлекаемых пестицидов [6, 7].

На сегодняшний день в литературе представлены различные подходы для извлечения фипронила из пчелиной матрицы, среди них жидкостная экстракция, твердофазная экстракция с применением различных сорбентов и колонок, способ QuEChERS и другие. Из числа представленных способов пробоподготовки, конечно, одним из быстрых, удобных и экономичных является QuEChERS. Однако, необходимо учитывать, что матрица пчелиного подмора имеет сложный состав. В ней могут присутствовать компоненты пыльцы, воска, который больше чем на половину состоит из сложных жиров, ферменты, прополис и многое другое, в связи с чем требуются эффективные адсорбенты для удаления сопутствующих веществ из экстракта [8-14]. В данной работе рассмотрено несколько способов экстракции для извлечения инсектицида фипронила из образцов пчелиного подмора.

Цель исследований – оценить эффективность экстракции фипронила из образцов подмора медоносных пчел при использовании малополярного растворителя с последующей стадией очистки твердофазной экстракцией и сильнополярного растворителя по способу QuEChERS.

Материалы и методы. В ходе исследования применяли аналитический стандарт фипронила с чистотой более 96%. Все используемые реактивы были квалификации хч или выше. Органические экстракты исследованы на газовом хроматографе «Хроматэк Кристалл 5000.2» с электронозахватным детектором (ГХ-ЭЗД) (Хроматэк, Йошкар-Ола, Россия). Условия хроматографирования: температура испарителя – 250 °С, термостата колонки – 210 °С, детектора – 340 °С, газ-носитель азот. Идентификацию фипронила проводили по времени удерживания, а количественное определение методом абсолютной калибровки. Применяли модельные объекты на основе пчелиного подмора, не содержащие остаточных количеств пестицидов, в которые вводили стандартные растворы фипронила и оставляли в темном месте на 1,5-2 ч при комнатной температуре. Подготовка проб осуществлялась согласно приведенной ниже схеме, где способ 1 – экстракция сильнополярным растворителем по способу QuEChERS, а способ 2 – экстракция малополярным растворителем с последующей стадией очистки твердофазной экстракцией.

Рисунок 2 – Схема пробоподготовки образцов пчелиного подмора для определения фипронила методом ГХ–ЭЗД (способ 1 – QuEChERS, способ 2 – ТФЭ)



Результаты исследований и их обсуждение. Для определения фипронила применяли газовую хроматографию в сочетании с простой и недорогой системой детектирования – электрон-захватной, которая проявляет высокую чувствительность к галогенсодержащим соединениям. На начальном этапе исследования была изучена градуировочная зависимость площади хроматографического пика от концентрации стандартного образца фипронила (на рисунке 3 приведен градуировочный график). Линейный диапазон с удовлетворительным коэффициентом корреляции (более 0,998) составил 0,01 - 5,0 мг/кг. Время удерживания фипронила составило 5,4 мин.

Рисунок 3 – Градуировочная зависимость «Площадь хроматографического пика - содержание фипронила»

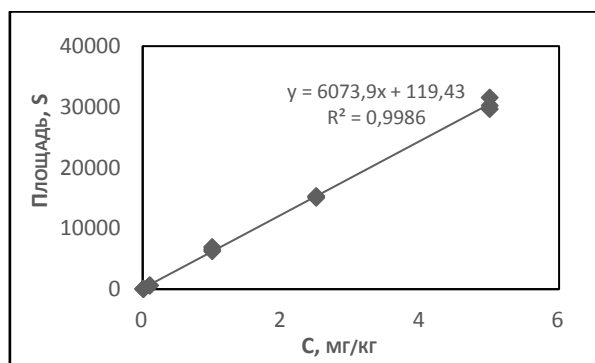
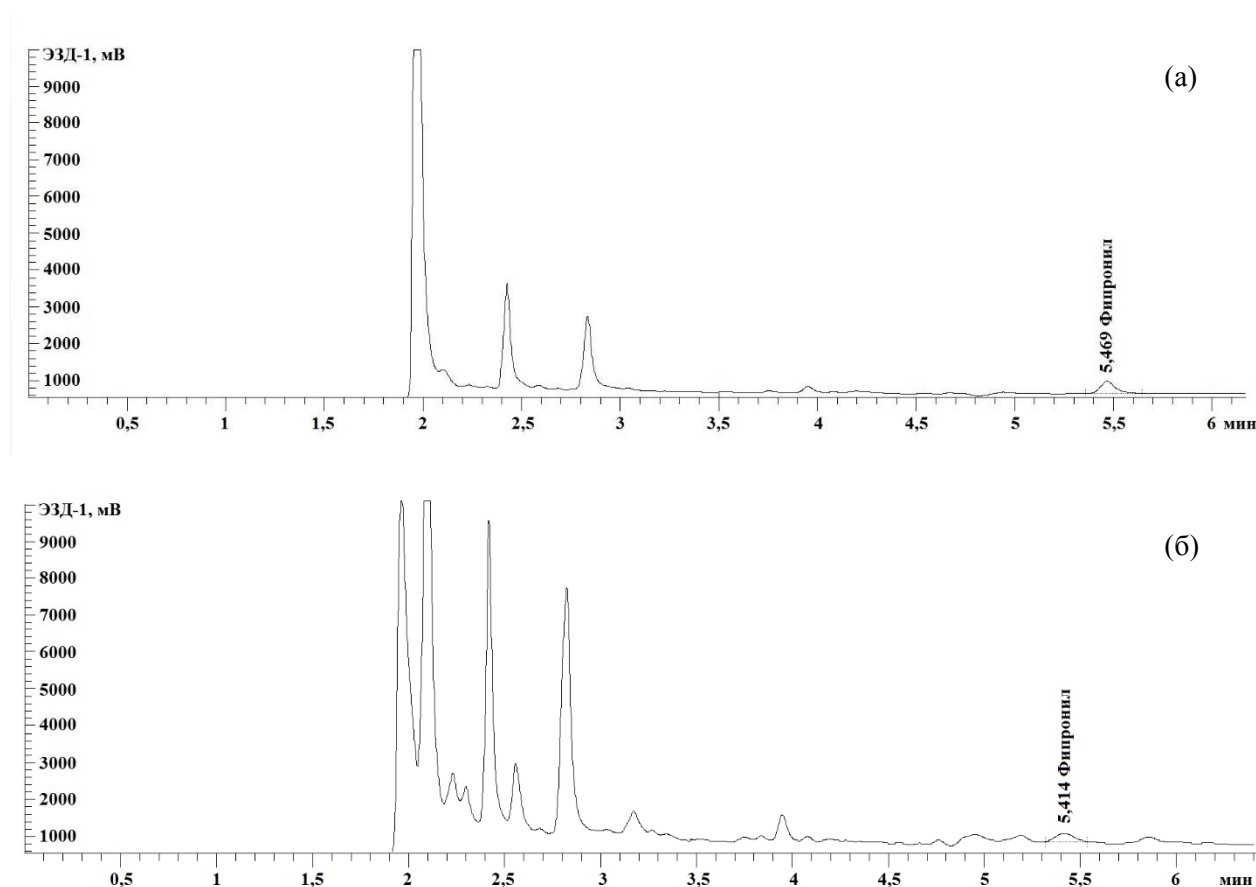


Рисунок 4 – Хроматограмма модельных образцов пчелиного подмора содержащая стандартный раствор фипронила (0,1 мг/кг) (способ экстракции: а – QuEChERS, б – ТФЭ)



Проведено исследование по изучению влияния матрицы медоносной пчелы на хроматографический сигнал фипронила. Для этого в чистые экстракты матрицы, полученные с применением двух способов экстракции вносили стандартные растворы фипронила в концентрациях 0,1 и 1,0 мг/кг.

С учетом справочных данных по растворимости искомых пестицидов в различных органических растворителях для экстракции были опробованы этилацетат и ацетон. Очевидным недостатком такого подхода является экстракция значительного количества жиров и воскоподобных веществ из матрицы образца из-за низкой полярности (в сравнении с ацетонитрилом) применяемых растворителей. Если в случае с QuEChERS очистка экстракта происходит за счет применения неполярного не смешивающегося с ацетонитрилом гексана, то в случае применения этилацетата или ацетона из-за их хорошей взаимной растворимости с гексаном очистку осуществляли, применяя оксид алюминия.

Результаты показали, при извлечении фипронила способом ТФЭ происходит усиление сигнала матрицей, что в конечном итоге может привести к ошибке при его количественном определении. В тоже время при экстрагировании способом QuEChERS какого-либо влияния на хроматографический сигнал инсектицида не наблюдалось. Отсутствовали сигналы компонентов матрицы, совпадающие со временем выхода стандартного образца. Хроматограммы чистых матриц пчелиного подмора с добавлением стандартного раствора фипронила (0,1 мг/кг), полученные после проведения экстракции двумя способами представлены на рисунке 4.

Проведены эксперименты по проверке степени извлечения фипронила на трех уровнях концентраций (0,05; 0,1 и 0,5 мг/кг). Нижний уровень соответствует ЛД₅₀ фипронила для пчел. Из данных представленных в таблице видно, что показатели полноты извлечения и рассчитанные стандартные отклонения находились в удовлетворительных диапазонах, так полнота извлечения находилась от 77,3 до 82,8% при стандартном отклонении менее 10. Отметим, что метод QuEChERS позволил добиться большей степени извлечения фипронила из матрицы пчелиного подмора, чем экстракция при помощи этилацетата и ацетона при разных уровнях добавки.

Таблица 1 – Результаты определения полноты извлечения фипронила из модельных образцов пчелиного подмора (n=8, P=0,95)

Добавлено фипронила, мг/кг	Способ экстракции	Обнаружено фипронила, мг/кг	Стандартное отклонение	Полнота определения, %
5,00*10 ⁻²	QuEChERS	(4,072 ± 0,13)*10 ⁻²	6,78	81,4
	ТФЭ	(3,866 ± 0,12)*10 ⁻²	9,23	77,3
1,00*10 ⁻¹	QuEChERS	(0,826 ± 0,05)*10 ⁻¹	5,18	82,6
	ТФЭ	(0,798 ± 0,06)*10 ⁻¹	5,42	79,8
5,00*10 ⁻¹	QuEChERS	(4,141 ± 0,08)*10 ⁻¹	5,22	82,8
	ТФЭ	(3,972 ± 0,10)*10 ⁻¹	5,46	79,4

Заключение. В результате проведенного сравнения способов пробоподготовки при определении фипронила в патологическом материале медоносных пчел, очистка ацетонового экстракта ТФЭ оставляет в пробе большее количество компонентов матрицы, чем при использовании способа QuEChERS. Применение которого обеспечивает высокую степень извлечения и эффективную очистку экстракта от сопутствующих нецелевых компонентов матрицы подмора медоносных пчел.

Список источников

1. Диагностика и ветеринарная помощь при отравлениях животных : (Общие принципы) / А. М. Тремасова, И. И. Идиятов, Э. И. Семенов [и др.]. – Казань : Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2022. – 236 с.
2. Калининкова, Т. Б. Токсическое действие пестицидов на пчел: обзор / Т. Б. Калининкова, А. Ф. Гатиятуллина, А. В. Егорова // Российский журнал прикладной экологии. – 2021. – № 3(27). – С. 50-57.
3. Law, R. J. Gaba receptor insecticide non-competitive antagonists may bind at allosteric modulator sites. / R. J. Law, F. C. Lightstone // Int J Neurosci. – 2008. – V. 118. – P. 705–734.
4. Галяутдинова, Г. Г. Антибиотики и пестициды в меде: пути попадания и методы определения / Г. Г. Галяутдинова, В. И. Егоров, П. А. Гуревич, М. Ф. Писцов // Пчеловодство. – 2020. – № 8. – С. 46-48.
5. Simultaneous detection of ten kinds of insecticide residues in honey and pollen using UPLC-MS/MS with graphene and carbon nanotubes as adsorption and purification materials / X. Pang, C. Li, C. Zang [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2022. - Vol. 29. - P. 21826-21838.

6. Газохроматографическое определение дельтаметрина, эсфенвалерата и альфа-циперметрина в пчелином подморе / А. З. Мухарлямова, А. М. Сайфутдинов, Е. Ю. Микрюкова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2026. – № 1. – С. 29-36.
7. Случай гибели медоносных пчёл в Ульяновской области в 2025 году / К. Е. Буркин, А. Г. Мухамметшина, А. З. Мухарлямова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2026. – № 1. – С. 23-28.
8. Бессонова, Е. А. Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция пестицидов с применением в качестве экстрагентов ионных жидкостей / Е. А. Бессонова, В. А. Деев, Л. А. Карцова // Журнал аналитической химии. – 2020. – Т. 75, № 8. – С. 692-701.
9. Долженко, О. К. Использование твердофазной экстракции и микроэкстракции в анализе пестицидов / О. К. Долженко, В. И. Остроухова, И. Г. Зенкевич // Агрохимия. – 2005. – № 1. – С. 74-87.
10. Мухарлямова, А.З. Выявление маркера тиаметоксама в образце меда масс-спектрометрическим методом / А. З. Мухарлямова, А. Г. Мухамметшина, А. М. Сайфутдинов, К. Е. Буркин // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2025. – № 2(54). – С. 248-255.
11. Применение технологии QUECHERS для исследований химической безопасности кормов, продовольственного сырья, пищевых продуктов и объектов экомониторинга / А. З. Мухарлямова, А. Г. Мухамметшина, Э. Р. Рахметова [и др.] // Современные проблемы пищевой безопасности : материалы международной научной конференции, Санкт-Петербург, 22–23 октября 2020 года – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – С. 306-310.
12. Сайфутдинов, А.М. Эффективность применения экстракции QuEChERS для мультипестицидного мониторинга зерновых хроматографическими методами / А. М. Сайфутдинов, А. Г. Мухамметшина, А. З. Мухарлямова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 1. – С. 14-19.
13. Федотов, П.С. Твердофазная экстракция органических веществ: нетрадиционные методы и подходы / П. С. Федотов, Г. И. Малофеева, Е. Ю. Савонина, Б. Я. Спиваков // Журнал аналитической химии. – 2019. – Т. 74, № 3. – С. 163-172.
14. Evaluation of cleanup procedures in pesticide multi-residue analysis with QuEChERS in cinnamon bark / Z. Zhang, M. Dong, X. Hao [et al.] // Food Chem. 2019. – Vol.276. – P. 140–146.

References

- 1 Diagnostics and veterinary care for animal poisoning : (General principles) / A.M. Tremasova, I. I. Idiyatov, E. I. Semenov [et al.]. – Kazan : Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 2022. – 236 p.
- 2 Kalinnikova, T. B. Toxic effect of pesticides on bees: a review / T. B. Kalinnikova, A. F. Gatiyatullina, A. V. Egorova // Russian Journal of Applied Ecology. - 2021. - No. 3 (27). - P. 50-57.
- 3 Law, R. J. Gaba receptor insecticide non-competitive antagonists may bind at allosteric modulator sites. / R. J. Law, F. C. Lightstone // Int J Neurosci. – 2008. – V. 118. – P. 705–734.
- 4 Galyautdinova, G. G. Antibiotics and pesticides in honey: routes of entry and methods of determination / G. G. Galyautdinova, V. I. Egorov, P. A. Gurevich, M. F. Pistsov // Beekeeping. – 2020. – № 8. – pp. 46-48.
- 5 Simultaneous detection of ten kinds of insecticide residues in honey and pollen using UPLC-MS/MS with graphene and carbon nanotubes as adsorption and purification materials / X. Pang, C. Li, C. Zang [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2022. - Vol. 29. - P. 21826-21838.
- 6 Gas-chromatographic determinations of deltamethrin, esphenvalerate and alpha-cipermetrin in the material of the bees / A. Z. Mukharlyamova, A. M. Sayfutdinov, E. YU. Mikryukova [et al.] // Veterinary doctor. - 2026. - No. 1. - P. 29-36.
- 7 Case of death of honey bees in ulyanovsk region in 2025 / K. E. Burkin, A. G. Mukhammetshina, A. Z. Mukharlyamova [et al.] // Veterinary doctor. - 2026. - No. 1. - P. 23-28.
- 8 Bessonova, E. A. Dispersive liquid-liquid microextraction of pesticides using ionic liquids as extractants / E. A. Bessonova, V. A. Deev, L. A. Kartsova // Journal of Analytical Chemistry. - 2020. - Vol. 75, No. 8. - Pp. 692-701.
- 9 Dolzhenko, O. K. Use of solid-phase extraction and microextraction in the analysis of pesticides / O. K. Dolzhenko, V. I. Ostroukhova, I. G. Zenkevich // Agrochemistry. – 2005. – No. 1. – P. 74-87.
- 10 Mukharlyamova, A.Z. Detection of the thiamethoxam marker in a honey sample using mass spectrometry / A. Z. Mukharlyamova, A. G. Mukhammetshina, A. M. Saifutdinov, K. E. Burkin // Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. - 2025. - No. 2 (54). - P. 248-255.

- 11 Mohtarova S.L., Fitsev I.M. Application of QuEChERS technology for research of chemical safety of feed, food raw materials, food products and ecomonitoring objects / A. Z. Mukharlyamova, A. G. Mukhammetshina, E. R. Rakhmetova [et al.] // Modern problems of food safety: mater. international Scientific Conference; St. Petersburg State University. – 2020. – P. 306–310.
- 12 Saifutdinov, A.M. Efficiency of QuEChERS extraction for multipesticide monitoring of grains using chromatographic methods / A. M. Saifutdinov, A. G. Mukhammetshina, A. Z. Mukharlyamova [et al.] // Veterinary doctor. - 2025. - No. 1. - Pp. 14-19.
- 13 Fedotov, P.S. Solid-phase extraction of organic substances: unconventional methods and approaches / P. S. Fedotov, G. I. Malofeeva, E. Yu. Savonina, B. Ya. Spivakov // Journal of Analytical Chemistry. - 2019. - Vol. 74, No. 3. - P. 163-172.
- 14 Evaluation of cleanup procedures in pesticide multi-residue analysis with QuEChERS in cinnamon bark / Z. Zhang, M. Dong, X. Hao [et al.] // Food Chem. 2019. – Vol.276. – P. 140–146.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 18.03.2026;

© Мухарлямова А. З., Мухамметшина А. Г., Ишкаев К. М., Сайфутдинов А. М., Сагдеев Э. А., Буркин К. Е., Мохтарова С. Л. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 42 – 51
The Veterinarian. 2026; (3): 42 – 51

Научная статья

УДК 619:616.98:579.852.13-085.37

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_42

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЭМФИЗЕМАТОЗНОГО КАРБУНКУЛА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ОВЕЦ В УСЛОВИЯХ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (МУССАЯ)

Мухамед Бангура ¹, *bangsbangoura@gmail.com*

Анастасия Владимировна Супова ², *supova.nastya@yandex.ru*

Павел Николаевич Шастин ², кандидат ветеринарных наук, *shastin.pasha@yandex.ru*

Андрей Владимирович Капустин ², доктор биологических наук, профессор, *kapustin_andrei@mail.ru*

Максим Александрович Толпыгин ², кандидат ветеринарных наук

¹ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Российская Федерация

²ФГБНУ Федеральный научный центр Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Павел Николаевич Шастин.

Аннотация. В исследовании оценивалась безвредность экспериментальной инактивированной вакцины против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец в сравнении с коммерческой вакциной «Симтовак». Проведенный в период с 2023 по 2024 год в супрефектуре Муссая, Форекария (Гвинея), эпизоотический анализ выявил общую распространенность заболевания в 11,1% среди поголовья, со значительной корреляцией между клиническими признаками и лабораторным подтверждением ($p < 0,001$). В эксперименте участвовало 320 животных, распределенных по типу вакцины, дозе, виду, возрасту и полу. Статистический анализ показал значительное влияние вакцины ($p < 0,001$), дозы ($p < 0,001$) и вида ($p < 0,001$), а также важные взаимодействия между этими факторами. Возраст и пол также модулировали поствакцинальный ответ: у молодняка КРС (3–5 месяцев) чаще чем у взрослых наблюдалась гипертермия, овцы сильнее реагировали на «Симтовак», а бараны — на экспериментальную вакцину. В целом, переносимость вакцины составляла 88,8% у КРС и 88% у овец для дозы 2 см³ экспериментальной вакцины, против 83,3% и 84% для «Симтовака», что подтверждает удовлетворительную безвредность экспериментальной формулы при стандартной дозе.

Ключевые слова: иммунобиологический препарат, доклинические исследования, инактивированная вакцина, безвредность, эффективность, крупный рогатый скот, овцы, Муссая, Форекария, Гвинея, биобезопасность

Для цитирования: Бангура М., Супова А. В., Шастин П. Н., Капустин А. В., Толпыгин М. А. Эффективность экспериментальной инактивированной вакцины против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота и овец в условиях Гвинейской Республики (Муссая) // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 42 – 51. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_42

EFFECTIVENESS OF AN EXPERIMENTAL INACTIVATED VACCINE AGAINST BOVINE AND SHEEP EMPHYSEMATOUS CARBUNCLE IN THE REPUBLIC OF GUINEA (MOUSSAYA)

Muhammed Bangura ¹, *bangsbangoura@gmail.com*

Anastasia V. Supova ², *supova.nastya@yandex.ru*

Pavel N. Shastin ², Candidate of Veterinary Sciences, *shastin.pasha@yandex.ru*

Andrey V. Kapustin ², Doctor of Biological Sciences, *kapustin_andrei@mail.ru*

Maxim A. Tolpygin ², Candidate of Veterinary Sciences

¹MBA after K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation

²Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Pavel Nikolaevich Shastin.

Abstract. The study evaluated the harmlessness of an experimental inactivated vaccine against bovine and sheep emphysematous carbuncle in comparison with the commercial Simtovac vaccine. An epizootic analysis conducted in the period from 2023 to 2024 in the sub-prefecture of Moussaya, Forekaria (Guinea), revealed an overall prevalence of 11.1% among livestock, with a significant correlation between clinical signs and laboratory confirmation ($p < 0.001$). 320 animals participated in the experiment, distributed by type of vaccine, dose, type, age and sex. Statistical analysis showed significant effects of vaccine ($p < 0.001$), dose ($p < 0.001$) and type ($p < 0.001$), as well as important interactions between these factors. Age and gender also modulated the post—vaccination response: young cattle (3-5 months old) had hyperthermia more often than adults, sheep reacted more strongly to Simtovac, and sheep to the experimental vaccine. In general, the vaccine tolerance was 88.8% in cattle and 88% in sheep for a dose of 2 cm³ of the experimental vaccine, versus 83.3% and 84% for Simtovac, which confirms the satisfactory harmlessness of the experimental formula at a standard dose.

Keywords: immunobiological preparation, preclinical studies, inactivated vaccine, harmlessness, efficacy, cattle, sheep, Mussaya, Trout, Guinea, biosafety

Введение. Эмфизематозный карбункул (ЭМКАР) – это острая неконтагиозная инфекционная болезнь, вызываемая бактерией *Clostridium chauvoei*. Она поражает главным образом крупный рогатый скот, овец и коз. Заболевание сопровождается повышением температуры тела до 40-41°C, возникновением крепитирующих отеков мышц в различных частях тела. Болезнь проявляется энзоотически, в пастбищный период [1, 2, 9].

Споры *C. chauvoei* длительное время сохраняются в почве. Они попадают в организм животных пероральным путем или через повреждения кожного покрова [9]. Клинические формы болезни проявляются в основном у хорошо упитанных молодых животных [3, 4].

Лечение больных животных не всегда эффективно из-за острого и молниеносного течения болезни. В связи с этим, в целях предотвращения возникновения и распространения эмкара, проводят вакцинацию. Доступные иммунобиологические препараты, как правило, являются поливалентными и направлены на профилактику против нескольких патогенов рода *Clostridium*, вызывающих ассоциированные клостридиозы животных [4]. Однако их эффективность варьируется в зависимости от используемого штамма в составе вакцины и качества инактивации культур микроорганизмов и их токсинов [5, 9, 10, 13].

Цель исследования – оценить безвредность и эффективность экспериментальной вакцины против эмкара крупного и мелкого рогатого скота в условиях Гвинейской Республики.

Материалы и методы. Исследования проводились в супрефектуре Мусайя, расположенной в префектуре Форекария, регион Киндия на западе Гвинейской Республики. В эксперименте по оценке эффективности и безвредности препарата были использованы животные двух видов: западноафриканские карликовые овцы (100 голов) и крупный рогатый скот породы Н'Дама (220 голов). Определение эффективности экспериментальной вакцины проводили в сравнительном аспекте с коммерческой вакциной «Симптовак» (Biopharma, Марокко).

Используемые в опыте вакцины аналогичны по своему составу: изготовлены из инаktivированных формалином культур *Clostridium chauvoei* с добавлением 6% гидроокиси алюминия в качестве адъюванта (10% к объему). Концентрация *Clostridium chauvoei* составляла 2 млрд. м.кл. в экспериментальном препарате и 500 миллионов м.кл. в коммерческом. Экспериментальную вакцину вводили внутримышечно: крупному рогатому скоту в область плеча, овцам – во внутреннюю поверхность бедра. Вакцину «Симптовак» вводили подкожно согласно инструкции.

Каждую вакцину тестировали в следующих вариациях:

- Экспериментальная – в стандартной дозе (2 см³ для крупного рогатого скота - 80 голов, 2 см³ для овец – 25 голов) и двойной дозе (4 см³ для крупного рогатого скота – 80 голов, 4 см³ для овец – 25 голов);
- «Симптовак»:
 - 2 см³ для крупного рогатого скота – 30 голов,
 - 1 см³ для овец – 25 голов,
 - 4 см³ для крупного рогатого скота – 30 голов,
 - 2 см³ для овец – 25 голов).

Опытные животные были разных возрастных групп и пола: крупный рогатый скот - 3-5, 6-24 и 25-60 месяцев, овцы - 6-15, 16-22 и 23-30 месяцев.

В эксперименте использовались здоровые животные. Ректальную температуру измеряли электронными термометрами на третьи и пятые сутки после вакцинации препаратами. Целью термометрии было выявление поствакцинального повышения температуры тела. Местные реакции (отек, покраснение, уплотнение) в месте инъекции контролировали на третий и пятые дни после вакцинации. Клинические данные были проанализированы по видам и возрасту животных, типу вакцины и объему введенной дозы. Безвредность вакцин оценивали по отсутствию поствакцинальных осложнений (реакции) и повышению температуры сверх нормы.

Клинические данные были собраны и статистически проанализированы с помощью программы RStudio (version 4.5.1) [11]. Проведен сравнительный анализ между группами, получившими разные дозы и типы вакцин. Статистическую значимость различий оценивали с использованием критерия $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Эпизоотологические данные, предоставленные главным управлением ветеринарных служб префектуры Форекария, свидетельствуют о циркуляции возбудителя эмфизематозного карбункула в стадах крупного рогатого скота в 2023-2024 годах (см. Таблица 1). На основании данных лабораторной диагностики и ветеринарной отчетности были идентифицированы и подвергнуты обследованию три стада крупного рогатого скота, в которых недавно регистрировались случаи заболевания. В этих стадах содержалось 105, 115 и 95 голов животных соответственно.

Таблица 1 – Результаты эпизоотологического мониторинга неблагополучного по эмкару поголовья КРС

Стада	Количество животных, гол.	Животные с клиническими признаками эмкара	Лабораторно-подтвержденные случаи заболевания	Заболеваемость (%)	Процент выявляемости заболевания (%)
1	105	18	12	17,1	66,7
2	115	9	8	7,8	88,9
3	95	8	7	8,4	87,5

Среди животных первого стада было зарегистрировано 18 случаев с характерной клинической картиной эмкара, из которых 12 подтверждены бактериологически. Таким образом, общая заболеваемость в данном поголовье составила 17,1 %, а доля лабораторно подтвержденных случаев среди клинически проявившихся - 66,7 %. Во втором стаде было подтверждено 8 случаев из зарегистрированных 9 (7,8 % случаев заболеваемости, 88,9 % - выявляемость заболевания в ветеринарной лаборатории), а в третьем стаде было отмечено 8 клинических случаев, лабораторно подтвержденных из которых 7 (8,4 % случаев заболеваемости, частота лабораторного подтверждения - 87,5%).

Среди 315 животных было зарегистрировано 35 случаев с выраженной характерной клинической картиной эмкара, из которых 27 были подтверждены бактериологически, то есть частота заболеваемости варьировалась от 7,6% до 17,1 %. Рассчитанный коэффициент риска (RR) составляет 4,22 (95% ДИ: 2,34–7,60), что свидетельствует об увеличении риска у животных с клиническими признаками быть зараженными эмкаром.

Высокое значение коэффициента риска свидетельствует о сильной связи между клиническим проявлениями болезни и результатами бактериологического анализа. Статистическая корреляция подтверждается крайне низким уровнем p -value ($p < 0,001$).

Оценка безвредности препаратов. Результаты измерения температуры тела вакцинированных животных представлены в таблицах 2 и 3.

У крупного рогатого скота, вакцинированного 4 см³ экспериментальной вакцины, у самцов было 39 из 42 случаев (92,9 %) гипертермии (≥ 40 °C) на третьи сутки после вакцинации по сравнению с 33 из 38 у самок (86,8 %). При той же дозировке коммерческой вакцины проценты гипертермии на третий день тоже были высокие: у 14 из 16 (87,5 %) самцов и 12 из 14 (85,7 %) самок. При 2 см³ тепловая реакция после экспериментальной вакцины была более умеренной: у 7 из 36 (19,4 %) самцов и 7 из 44 (15,9 %) самок, после коммерческой вакцины - : у 4 из 20 (20,0 %) самцов и 1 из 10 (10,0 %) самок .

Таблица 2 – Результаты измерения температуры тела в зависимости от дозы вакцины, пола и вида животного

Вид животных	Вакцина	Доза (см ³)	Пол	Ректальная температура (Т°С)	Количество животных (гол)	
					3-и сут.	5-ые сут.
КРС	Симтовак	2	Самка	38–39°С	9	10
			Самка	≥40°С	1	0
			Самец	38–39°С	16	17
			Самец	≥40°С	4	3
		4	Самка	38–39°С	2	3
			Самка	≥40°С	12	11
			Самец	38–39°С	2	3
			Самец	≥40°С	14	13
	Экспериментальная вакцина	2	Самка	38–39°С	37	39
			Самка	≥40°С	7	5
			Самец	38–39°С	29	30
			Самец	≥40°С	7	6
		4	Самка	38–39°С	5	7
			Самка	≥40°С	33	31
			Самец	38–39°С	3	4
			Самец	≥40°С	39	38
Овцы	Симтовак	1	Самка	38–39°С	15	15
			Самец	38–39°С	10	10
		2	Самка	38–39°С	0	7
			Самка	≥40°С	16	9
			Самец	38–39°С	0	1
	Экспериментальная вакцина	2	Самка	38–39°С	16	16
			Самец	38–39°С	9	9
		4	Самка	38–39°С	0	3
			Самец	38–39°С	0	4
			Самка	≥40°С	11	8
			Самец	≥40°С	14	10

У овец была гипертермия на 3-й день после вакцинации коммерческой вакциной при 2 см³ для обоих полов и при 4 см³ для самок и самцов экспериментальной вакциной (например, у 16 из 16 самок, 9 из 9 самцов при использовании коммерческой вакцины температура была повышена), но не наблюдалась гипертермия при 1 см³ (для коммерческой вакцины) и при 2 см³ (для экспериментальной вакцины).

Из 320 вакцинированных животных гипертермия (≥40 °С) чаще наблюдалась у крупного рогатого скота, получавшего экспериментальную вакцину в дозе 4 см³, при 90 % случаев на третьи сутки и 86,3 % на пятые сутки. При эквивалентной дозе коммерческая вакцина также вызывала повышение температуры у крупного рогатого скота (86,7 % на третьи сутки и 80 % на пятые сутки). Напротив, при вакцинальной дозе 2 см³ обе вакцины показали лучшую переносимость, при этом у меньшего количества животных наблюдалось повышение температуры (например, 17,5 % на третьи сутки и 13,8 % на пятые сутки после вакцинации экспериментальной вакциной).

Для овец дозы 1 см³ (коммерческой вакцины) и 2 см³ (экспериментальной вакцины) были переносимыми. В то время как 2 см³ (коммерческой вакцины) и 4 см³ (экспериментальной вакцины) вызывали гипертермию на третьи и пятые сутки после введения препаратов у 100% и 68 % (коммерческой вакцины) и 100 % и 72 % (экспериментальной вакцины) соответственно. Эти данные указывают на дозозависимый и рецептурно-зависимый эффект, на поствакцинальный тепловой ответ, особенно выраженный у овец.

Статистический анализ выявил высоко значимые различия между экспериментальными группами. Критерий Пирсона Хи-квадрат ($\chi^2 = 7,66$; $ddl = 1$; $p = 0,0056$) показал наличие значимой связи между изучаемыми переменными, что позволяет предположить, что наблюдаемое распределение ответов не было случайным, а находилось под влиянием экспериментальных факторов.

Дисперсионный анализ (трехфакторный ANOVA) подтвердил значительный эффект типа вакцины ($F = 85,48$; $p < 0,001$), вводимой дозы ($F = 360,16$; $p < 0,001$) и вида животного ($F = 28,52$; $p < 0,001$) на измеряемую переменную. Кроме того, взаимодействия между этими факторами оказались высоко значимыми: Вакцина $\times$ Доза ($F = 122,39$; $p < 0,001$), Вакцина $\times$ Вид ($F = 165,43$; $p < 0,001$) и Доза $\times$ Вид ($F = 32,46$; $p < 0,001$). Также наблюдалось тройное взаимодействие Вакцина $\times$ Доза $\times$ Вид ($F = 54,37$; $p < 0,001$), что указывает на то, что экспериментальный ответ зависел от конкретного сочетания типа вакцины, используемой дозы и вида животного.

Таблица 3 – Результаты измерения температуры тела в зависимости от дозы вакцины, возраста и вида животного

Вид животных	Вакцина	Доза (см ³)	Возраст, мес.	Количество животных			
				3-и сут.		5-ые сут.	
				38–39°C	≥40°C	38–39°C	≥40°C
КРС	Симтовак	2	25-60 мес.	25	5	27	3
		4	3-5 мес.	0	3	0	3
			6-24 мес.	1	16	3	14
			25-60 мес.	3	7	3	7
	Экспериментальная вакцина	2	3-5 мес.	0	2	0	2
			6-24 мес.	64	12	67	9
			25-60 мес.	2	0	2	0
		4	6-24 мес.	8	17	11	14
			25-60 мес.	0	55	0	55
Овцы	Экспериментальная вакцина	2	6-15 мес.	16	0	16	0
			16-22 мес.	6	0	6	0
			23-30 мес.	3	0	3	0
		4	6-15 мес.	0	13	0	13
			16-22 мес.	0	6	0	6
			23-30 мес.	0	6	0	6
	Симтовак	1	6-15 мес.	13	0	13	0
			16-22 мес.	7	0	7	0
			23-30 мес.	5	0	5	0
		2	6-15 мес.	0	15	0	15
			16-22 мес.	0	3	2	1
			23-30 мес.	0	7	6	1

Исходя из данных, представленных в таблице 3, при вакцинации 4 см³ коммерческой вакциной крупного рогатого скота в возрасте 6-24 месяцев повышение температуры наблюдалось в 94,1% случаев на третьи сутки, в то время как при введении экспериментальной вакцины – 68,0 % случаев. У взрослого крупного рогатого скота (25-60 месяцев) также наблюдались высокие показатели температуры: 70% (коммерческая вакцина) и 100% (экспериментальная вакцина) на третьи сутки после вакцинации. У молодняка крупного рогатого скота (3-5 месяцев) наблюдались гипертермия в 100% случаев как на третьи сутки, так и на пятые сутки.

При вакцинации овец в возрасте от 6 до 30 месяцев как коммерческой (1 см³), так и экспериментальной (2 см³) вакциной не наблюдалось повышение температуры, в отличие от удвоенной дозы, при которой наблюдалось 100 % повышение температуры на третьи сутки. Показаны результаты оценки местных реакций вакцинированных животных в таблицах 4 и 5.

Таблица 4 – Оценка местных реакций в зависимости от дозы вакцины и возраста животных

Вид животных	Вакцина	Доза (см ³)	Возраст, мес.	Количество вакцинированных животных, гол.	Количество местных реакций
КРС	Симтовак	2	25-60 мес.	30	5
		4	3-5 мес.	3	2
			6-24 мес.	17	6
			25-60 мес.	10	3
	Экспериментальная вакцина	2	3-5 мес.	2	0
			6-24 мес.	76	9
			25-60 мес.	2	0
		4	6-24 мес.	25	15
			25-60 мес.	55	31
Овцы	Экспериментальная вакцина	2	6-15 мес.	16	2
			16-22 мес.	6	1
			23-30 мес.	3	0
		4	6-15 мес.	13	7
			16-22 мес.	6	3
			23-30 мес.	6	3
	Симтовак	1	6-15 мес.	13	2
			16-22 мес.	7	1
			23-30 мес.	5	1
		2	6-15 мес.	15	9
			16-22 мес.	3	3
			23-30 мес.	7	5

При вакцинации однократной дозой как коммерческой вакцины (Симптовак), так и экспериментальной вакцины во всех возрастных группах как овец, так и крупного рогатого скота наблюдались единичные случаи проявления местных реакций в виде отёка, припухлостей. Вакцинация двукратной дозой коммерческой вакциной овец в возрасте 16-22 месяца и 23-30 месяцев провоцировала местные реакции в 100 % и 71,4 %, в то время как при вакцинации экспериментальной вакцины данный показатель составил 50 % и 50 %.

Таблица 5 – Оценка местных реакций в зависимости от дозы вакцины и пола животных

Вид животных	Вакцина	Доза (см ³)	Пол	Количество вакцинированных животных, гол.	Количество местных реакций
КРС	Симтовак	2	Самка	10	2
			Самец	20	3
		4	Самка	14	6
			Самец	16	5
	Экспериментальная вакцина	2	Самка	44	4
			Самец	36	5
		4	Самка	38	22
			Самец	42	24
Овцы	Экспериментальная вакцина	2	Самка	16	2
			Самец	9	1
		4	Самка	11	4
			Самец	14	9
	Симтовак	1	Самка	15	3
			Самец	10	1
		2	Самка	16	12
			Самец	9	5

В возрасте 3-5 месяцев у молодняка крупного рогатого скота при вакцинации коммерческой вакциной в двукратной дозе процент местных реакций составил 66,7 %. В возрастных группах крупного рогатого скота 6-24 месяцев и 25-60 месяцев процент местных реакций был почти в 2 раза выше при вакцинации удвоенной дозой экспериментальной вакцины по сравнению с удвоенной дозой коммерческой вакцины.

Обнаружена зависимость от пола животного на оценку поствакцинальной местной реакции, особенно у овец, получавших «Симптовак» в дозе 2 см³ и экспериментальную вакцину в дозе 4 см³. При введении «Симптовака» у самок наблюдался 75 % местных реакций по сравнению с 55,6 % у самцов; экспериментальной вакцины - у самок наблюдалось 36,4 % местных реакций по сравнению с 64,3 % у самцов. Несмотря на обнаруженную зависимость, что указывает на вероятную гиперреактивность, связанную с повышенной иммунологической чувствительностью для разных вакцин, зависимость не связана.

У крупного рогатого скота при вакцинации инактивированной экспериментальной вакциной в двойной дозе местная реакция остается высокой у обоих полов (57,9% у самцов, 57,1% у самок), что свидетельствует о дозозависимом эффекте, не зависящем от пола.

Таблица 6 – Оценка переносимости вакцин в зависимости от повышения температуры

Вид животного	Группа	Доза вакцины (см ³)	Количество вакцинированных животных, гол.	Количество с температурой $\geq 40^{\circ}\text{C}$ на 5-ые сут.	Процент переносимости
КРС	Экспериментальная вакцина	2	80	11	86,3 %
		4	80	69	13,8 %
	Симптовак	2	30	3	90,0 %
		4	30	24	20,0 %
Овцы	Экспериментальная вакцина	2	25	0	100,0 %
		4	25	18	28,0 %
	Симптовак	1	25	0	100,0 %
		2	25	17	32,0 %

Повышенная температура оставалась у большинства животных при применении удвоенной дозы препарата, когда стандартная доза на пятые сутки чаще не вызывала повышение температуры.

Таблица 7 – Оценка переносимости вакцин в зависимости от местных реакций

Вид животного	Группа	Доза вакцины (см ³)	Количество вакцинированных животных, гол.	Количество местных реакций	Процент переносимости
КРС	Экспериментальная вакцина	2	80	9	88,8 %
		4	80	46	42,50%
	Симптовак	2	30	5	83,3 %
		4	30	11	63,3 %
Овцы	Экспериментальная вакцина	2	25	3	88,0 %
		4	25	13	48,0 %
	Симптовак	1	25	4	84,0 %
		2	25	17	32,0 %

Местные реакции у крупного рогатого скота были наиболее выраженными при применении удвоенной дозы препарата (4 см³), при этом количество животных с признаками реакций достигал 57,5 % при вакцинации экспериментальной вакциной и 36,7 % при вакцинации Симптовак.

Однократная доза является переносимой при применении экспериментальной и коммерческой вакцин против эмкара у КРС и овец.

Обсуждение. Полученные в данном исследовании результаты демонстрируют, что экспериментальная инактивированная вакцина против эмкара обладает переносимостью у крупного рогатого скота и овец при стандартной дозе (2 см³), сравнимой с коммерческой вакцины «Симтовак». Многофакторный анализ выявил значительное влияние типа вакцины, дозы и вида животного на поствакцинальный ответ ($p < 0,001$), подтвердив существование дозозависимой реактогенности. Эти наблюдения согласуются с данными, приведенными [1,4], которые показали, что поствакцинальные реакции на вакцины против эмфизематозного карбункула тесно зависят от используемого штамма, концентрации антигена и чувствительности вида хозяина.

У крупного рогатого скота повышение ректальной температуры (≥ 40 °C) после введения двойной дозы (4 см³) экспериментальной или коммерческой вакцины указывает на усиленную иммунную стимуляцию, вероятно, связанную с местной воспалительной реакцией. Это наблюдение согласуется с результатами [5], которые показали, что умеренное повышение температуры после вакцинации отражает физиологическую активацию иммунной системы без патологического эффекта. Напротив, отсутствие заметной реакции на дозу 2 см³ свидетельствует о хорошем балансе между иммуногенностью и переносимостью, что является ключевым критерием безопасности вакцины [15].

У овец реакция различалась в зависимости от типа вакцины: самки, вакцинированные «Симтоваком», демонстрировали больше местных признаков, в то время как самцы показали легкую реактогенность к экспериментальной вакцине. Такая межиндивидуальная вариабельность в зависимости от пола также была отмечена в других исследованиях [5], подчеркивая, что поствакцинальные воспалительные реакции могут модулироваться половыми гормонами и физиологическим возрастом.

Молодой крупный рогатый скот в возрасте от 3 до 5 месяцев оказался более чувствительным, что согласуется с работами других авторов, согласно которым реактогенность часто более выражена у молодых животных из-за их еще формирующейся иммунной системы.

Количество местных реакций организмов животных варьируются в зависимости от вакцины, дозы и пола, что подчеркивает необходимость включения полового фактора в качестве критической биологической переменной в протоколы безопасности. Эти результаты подтверждают важность экспериментальной стратификации по признаку пола для прогнозирования побочных эффектов и оптимизации безопасности вакцин.

Статистические результаты подтверждают значимость множественных взаимодействий (вакцина $\times$ доза $\times$ вид), указывая на то, что безопасность вакцины должна оцениваться конкретно для каждой комбинации. Эти наблюдения усиливают необходимость дифференцированной корректировки дозировки в зависимости от вида и возраста, в соответствии с рекомендациями Misra R.P. [15] и Девришова и др [16] по ветеринарным вакцинам. В целом, наблюдаемая переносимость на уровне 86–89% у экспериментальной вакцины при стандартной дозе отражает хорошую безопасность.

Заключение. Проведенные исследования показали, что экспериментальная инактивированная вакцина против эмкара безвредна в дозе 2 см³ для овец и крупного рогатого скота, вызывая у незначительного количества животных повышение температуры и слабые местные реакции. Данная экспериментальная вакцина показала сравнимые, а в некоторых случаях лучшие значения изучаемых показателей, по сравнению с коммерческой вакциной «Симптовак».

Финансирование исследования. Работа выполнена в соответствии с Государственным заданием Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме: FGUG-2025-0003 «Изучение разнообразия микробиома животных и окружающей среды в природных резервуарах с применением метагеномного подхода для создания и реализации комплекса мероприятий по защите животных от инфекционных заболеваний, поиск источников инфекций животных и человека, получение штаммов потенциально пригодных для производства диагностических и иммунобиологических препаратов в целях обеспечения биологической безопасности страны».

Список источников

1. Uzal F. A. et al. (ed.). Clostridial diseases of animals. John Wiley & Sons, 2026.
2. Tyasningsih W., Khairullah A.R., Tang J.Y.H., et al. Blackleg: A deadly disease with a hidden cause. Open Vet J. 2025 Jun;15(6):2343-2354. doi: 10.5455/OVJ.2025.v15.i6.7. Epub 2025 Jun 30. PMID: 40989646; PMCID: PMC12451119.
3. Quinn Patrick .J. и др. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. - 2011. - 2. Ed. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell

4. Useh N.M., Nok A.J., Esievo K.A. Pathogenesis and pathology of blackleg in ruminants: the role of toxins and neuraminidase. A short review. *Vet Q.* – 2003. – Dec;25(4):155-9. doi: 10.1080/01652176.2003.9695158. PMID: 14714738.
5. Kapustin A.V. Development of a vaccine against blackleg of cattle // *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences.* – (2016). – No. 5(53). – P. 97-102. – DOI 10.18551/rjoas.2016-05.13. – EDN VXCNCN.
6. Thomas P., Abdel-Glil M.Y., Eichhorn I. et al. Genome Sequence Analysis of *Clostridium chauvoei* Strains of European Origin and Evaluation of Typing Options for Outbreak Investigations. *Front. Microbiol.* - 2021. - 12. - 732106. doi: 10.3389/fmicb.2021.732106
7. Abdolmohammadi Khiav L., Zahmatkesh A. Vaccination against pathogenic clostridia in animals: a review. *Trop Anim Health Prod.* - 2021. - 23; 53(2):284. doi: 10.1007/s11250-021-02728-w. PMID: 33891221; PMCID: PMC8062623.
8. Rossi A., Guarnaschelli J., Rial A. et al. Humoral and cellular immune responses in cattle upon *Clostridium chauvoei* vaccination and challenge. *Front Immunol.* - 2025. – 20. - 16:1584168. doi: 10.3389/fimmu.2025.1584168. PMID: 40463373; PMCID: PMC12130040.
9. Бангура М., Супова А.В., Шастин П.Н. Сравнительное изучение штаммов *Clostridium chauvoei*: морфологические и культуральные свойства // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология.* – 2024. – Т. 1, № 11. – С. 95-104. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202411109. – EDN CLEWQJ.
10. Бангура М., Супова А.В., Шастин П.Н., Капустин А.В. Разработка вакцины против эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота // *Ветеринарный врач.* – 2025. – № 1. – С. 48-53. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_1_48. – EDN LQJEWJ.R
11. Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. – 2024. URL: <https://www.R-project.org>.
12. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. - 2024. URL: <https://qgis.org>.
13. Моренко Е. А., Михеев В.Е., Сусский Е.В., Ярцев С.Н. Разработка инактивированной поливалентной вакцины "Клостарм-9" против клостридиозов жвачных // *Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов: материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых, Лосино-Петровский, 27–28 октября 2022 года. Лосино-Петровский: Б. и. - 2022. - С. 173-179. – DOI 10.47804/9785899040313_2022_171. – EDN OJGHOB.*
14. Бангура М., Супова А.В., Капустин А.В. Эпизоотологические характеристики эмфизематозного карбункула крупного рогатого скота в Фарана, Гвинейская Республика // *Аграрная наука в обеспечении продовольственной безопасности и развитии сельских территорий: Сборник материалов VI Международной научно-практической конференции: Луганск, 21 января – 06 2025 года. – Луганск: Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Луганский государственный аграрный университет имени К.Е. Ворошилова». - 2025. С. 110-112. – EDN OHQHNP.*
15. Misra R.P. Manual for the production of anthrax and blackleg vaccines. 1991. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS 87. Rome, © FAO. M-27 ISBN 92-5-102920-2
16. Девришов Д. А., Пулотов Ф.Х. Технологические и иммунобиологические аспекты производства вакцины против эмфизематозного карбункула // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология.* – 2019. – № 1. – С. 60-65. – DOI 10.26155/vet.zoo.bio.201901009. – EDN XISXGP.

References

1. Uzal F. A. et al. (ed.). *Clostridial diseases of animals.* John Wiley & Sons, 2026.
2. Tyasningsih W., Khairullah A.R., Tang J.Y.H., et al. Blackleg: A deadly disease with a hidden cause. *Open Vet J.* 2025 Jun;15(6):2343-2354. doi: 10.5455/OVJ.2025.v15.i6.7. Epub 2025 Jun 30. PMID: 40989646; PMCID: PMC12451119.
3. Quinn Patrick .J. et al. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease.* - 2011. - 2nd Ed. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell
4. Useh N.M., Nok A.J., Esievo K.A. Pathogenesis and pathology of blackleg in ruminants: the role of toxins and neuraminidase. A short review. *Vet Q.* – 2003. – Dec;25(4):155-9. doi: 10.1080/01652176.2003.9695158. PMID: 14714738.

5. Kapustin A.V. Development of a vaccine against blackleg of cattle // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – (2016). – No. 5(53). – P. 97-102. – DOI 10.18551/rjoas.2016-05.13. – EDN VXCNCN.
6. Thomas P., Abdel-Glil M.Y., Eichhorn I. et al. Genome Sequence Analysis of *Clostridium chauvoei* Strains of European Origin and Evaluation of Typing Options for Outbreak Investigations. *Front. Microbiol.* - 2021. - 12. - 732106. doi: 10.3389/fmicb.2021.732106
7. Abdolmohammadi Khiav L., Zahmatkesh A. Vaccination against pathogenic clostridia in animals: a review. *Trop Anim Health Prod.* - 2021. - 23; 53(2):284. doi: 10.1007/s11250-021-02728-w. PMID: 33891221; PMCID: PMC8062623.
8. Rossi A., Guarnaschelli J., Rial A. et al. Humoral and cellular immune responses in cattle upon *Clostridium chauvoei* vaccination and challenge. *Front Immunol.* - 2025. – 20. - 16:1584168. doi: 10.3389/fimmu.2025.1584168. PMID: 40463373; PMCID: PMC12130040.
9. Bangura M., Supova A.V., Shastin P.N. Comparative study of *Clostridium chauvoei* strains: morphological and cultural properties // *Veterinary, animal science, and biotechnology.* – 2024. – Vol. 1, No. 11. – pp. 95-104. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202411109. – EDN CLEWQJ.
10. Bangura M., Supova A.V., Shastin P.N., Kapustin A.V. Development of a vaccine against bovine emphysematous carbuncle // *Veterinarian.* – 2025. – No. 1. – pp. 48-53. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_1_48. – EDN LQJEWJ.R
11. Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. – 2024. URL: <https://www.R-project.org>.
12. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. - 2024. URL: <https://qgis.org>.
13. Morenko E. A., Mikheev V.E., Sussky E.V., Yartsev S.N. Development of an inactivated multivalent vaccine "Klostarm-9" against ruminant clostridiosis // *Scientific foundations of production and quality assurance of biological preparations: proceedings of the International Scientific and Practical Conference of Young Scientists, Losino-Petrovsky, October 27-28, 2022. Losino-Petrovsky: B. I. - 2022. - pp. 173-179. – DOI 10.47804/9785899040313_2022_171. – EDN OJGHOB.*
14. Bangura M., Supova A.V., Kapustin A.V. Epizootological characteristics of bovine emphysematous carbuncle in Farana, Republic of Guinea // *Agrarian science in ensuring food security and rural development: Proceedings of the VI International Scientific and Practical Conference: Lugansk, January 21 – 06, 2025. Lugansk: Federal State Educational Institution of Higher Education "Lugansk State Agrarian University named after K.E. Voroshilov". - 2025. pp. 110-112. – EDN OHQHNP.*
15. Misra R.P. Manual for the production of anthrax and blackleg vaccines. 1991. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS 87. Rome, © FAO. M-27 ISBN 92-5-102920-2
16. Devrishov D. A., Pulotov F.H. Technological and immunobiological aspects of vaccine production against emphysematous carbuncle // *Veterinary, animal science, and biotechnology.* – 2019. – No. 1. – pp. 60-65. – DOI 10.26155/vet.zoo.bio.201901009. – EDN XIXSGP.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 28.04.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 52 – 60
The Veterinarian. 2026; (3): 52 – 60

Научная статья

УДК 616.98:678.824.11

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_52

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНАЛОГОВ ИММУНОДОМИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА В ПРОКАРИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ЭКСПРЕССИИ

Антонина Глебовна Галеева^{1,2}, кандидат ветеринарных наук, antonina-95@yandex.ru

Юлия Александровна Кузнецова¹, yulia.nikolaeva111@mail.ru

Алсу Рузалевна Ахунова¹, кандидат ветеринарных наук, aahunova@inbox.ru

Замиля Загитовна Алеева¹

Наиль Ильдарович Хаммадов^{1,2}, кандидат биологических наук, nikhammadov@mail.ru

Рафаил Мазитович Ахмадеев¹, кандидат ветеринарных наук, ahm_rafail@mail.ru

Марина Анатольевна Ефимова^{1,2}, доктор биологических наук, marina-2004r@mail.ru

¹ Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

² «Казанский ГАУ» Институт «Казанская академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Антонина Глебовна Галеева

Аннотация. Бешенство остается одной из наиболее актуальных для Российской Федерации инфекцией, контроль над которой требует совершенствования диагностических подходов. Настоящая работа посвящена разработке технологии получения рекомбинантных антигенов вируса бешенства в прокариотической системе *Escherichia coli* для повышения доступности и точности экспресс-методов серодиагностики. С использованием классических методов иммуноинформатики были разработаны структуры рекомбинантных аналогов иммунодоминантных антигенов вируса бешенства: поверхностного гликопротеина G и нуклеопротеина N. С применением синтетических модифицированных генов были сконструированы рекомбинантные экспрессионные плазмиды на основе коммерческого вектора pET-28a (+), которыми был трансформирован штамм-реципиент *E. coli* BL21(DE3)pLysS с последующей селекцией позитивных клонов. Оптимизация условий экспрессии включала подбор параметров культивирования и индукции экспрессии, а также хроматографической очистки. В ходе экспрессии удалось получить усеченный белок G (G-ecto) с суммарным выходом до 34 мг/л бактериальной культуры и усеченный белок N (N-tr) с суммарным выходом до 22 мг/л бактериальной культуры, при этом их антигенная активность была сопоставима с контрольным цельновирионным антигеном, что характеризует полученные аналоги как перспективные антигены для использования в серологических тестах. Представленный метод получения рекомбинантных аналогов белков G и N вируса бешенства открывает путь к созданию надежных и недорогих диагностических тестов, исключая работу с живым патогеном.

Ключевые слова: вирус бешенства, рекомбинантные антигены, гликопротеин, нуклеопротеин, *Escherichia coli*, иммуноферментный анализ

Для цитирования. Галеева А. Г., Кузнецова Ю. А., Ахунова А. Р., Алеева З. З., Хаммадов Н. И., Ахмадеев Р. М., Ефимова М. А. Особенности продукции рекомбинантных аналогов иммунодоминантных антигенов вируса бешенства в прокариотической системе экспрессии // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 52 – 60. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_52

PRODUCTION FEATURES OF RECOMBINANT ANALOGUES OF IMMUNODOMINANT RABIES VIRUS ANTIGENS IN THE PROKARYOTIC EXPRESSION SYSTEM

Antonina G. Galeeva^{1,2}, Candidate of Veterinary Sciences, antonina-95@yandex.ru

Julia A. Kuznetsova¹, yulia.nikolaeva111@mail.ru

Alsu R. Akhunova¹, Candidate of Veterinary Sciences, aahunova@inbox.ru

Zamilya Z. Aleeva¹

Nail I. Khammadov^{1,2}, Candidate of Biological Sciences, nikhammadov@mail.ru

Rafail M. Akhmadeev¹, Candidate of Veterinary Sciences, ahm_rafail@mail.ru

Marina A. Efimova^{1,2}, doctor of biological sciences, marina-2004r@mail.ru

¹ Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

² Kazan State Agrarian University, Institute «Kazan Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman», Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Antonina Glebovna Galeeva.

Abstract. Rabies remains one of the most urgent infections in the Russian Federation, the control of which requires improved diagnostic approaches. This work is devoted to the development of technology for the production of recombinant rabies virus antigens in the prokaryotic *Escherichia coli* system to increase the availability and accuracy of rapid serodiagnostic methods. The structures of recombinant analogues of rabies virus immunodominant antigens, surface glycoprotein G and nucleoprotein N, were developed using classical immunoinformatics methods. Recombinant expression plasmids based on the commercial pET-28a(+) vector were constructed using synthetic modified genes, which transformed the recipient strain of *E. coli* BL21(DE3)pLysS with subsequent selection of positive clones. Optimization of the expression conditions included selection of the parameters of cultivation and induction of expression, as well as chromatographic purification. Expression yielded a truncated G protein (G-ecto) with a total yield of up to 34 mg/L of bacterial culture and a truncated N protein (N-tr) with a total yield of up to 22 mg/L of bacterial culture. Their antigenic activity was comparable to that of the control whole-virion antigen, making the resulting analogues promising antigens for use in serological testing. The presented method for producing recombinant analogues of the rabies virus G and N proteins opens the way to the development of reliable and inexpensive diagnostic tests that eliminate the need for live pathogens.

Keywords: rabies virus, recombinant antigens, glycoprotein, nucleoprotein, *Escherichia coli*, enzyme immunoassay

Введение. Бешенство остается одной из наиболее опасных зооантропонозных инфекций, характеризующейся абсолютной летальностью при условии проявления клинических признаков и широким глобальным распространением [1]. Несмотря на наличие коммерчески доступных эффективных вакцин, ключевыми элементами в стратегии контроля заболевания являются своевременная диагностика и мониторинг напряженности поствакцинального иммунитета [2-4]. Традиционные методы лабораторной диагностики и оценки титров вируснейтрализующих антител, такие как RFFIT и FAVN, основаны на использовании живого вируса и культур клеток, что сопряжено с высоким уровнем биологической опасности, трудоемкостью и сложностью стандартизации [5]. В связи с этим современная биотехнология ставит приоритетной задачей переход от применения нативных вирусных лизатов к высокоочищенным рекомбинантным антигенам.

В качестве мишеней для создания диагностических тест-систем, в частности, на основе иммуноферментного анализа (ИФА) традиционно рассматриваются два иммунодоминантных антигена вируса бешенства: поверхностный гликопротеин (G) и нуклеопротеин (N) [6]. Выбор между ними для реализации конкретного диагностического метода и стратегиями их получения обусловлены их структурно-функциональными характеристиками. Гликопротеин G является единственным поверхностным антигеном вируса и основной мишенью для вируснейтрализующих антител; именно его наличие в диагностических панелях позволяет оценить степень напряженности протективного иммунитета [7]. Однако экспрессия полноразмерного белка G в прокариотических системах, таких как *Escherichia coli*, представляет собой серьезную проблему: белок является мембраносвязанным, обладает гидрофобными доменами и в нативной форме подвергается сложному гликозилированию, невоспроизводимому бактериальной клеткой. В бактериальных продуцентах он склонен к агрегации и образованию телец включения (ТВ), что требует оптимизации условий рефолдинга или использования усеченных форм, содержащих ключевые антигенные детерминанты [8]. В отличие от белка G, нуклеопротеин N, формирующий вирусный капсид, является наиболее консервативным и обильно продуцируемым белком. Он индуцирует мощный гуморальный иммунный ответ, хотя антитела к нему не обладают нейтрализующей активностью [9]. Тем не менее, высокая иммуногенность и структурная стабильность делают N-белок информативным маркером для детекции факта инфицирования [10]. С технологической точки зрения N-белок демонстрирует лучшую растворимость и, как правило,

высокий выход при экспрессии в *E. coli* [11], что делает его привлекательным кандидатом для массового производства диагностикумов.

Мировой опыт получения рекомбинантных антигенов вируса бешенства обширен, апробированы системы экспрессии от клеток насекомых (бакуловирусная система) до трансгенных растений [12-14]. Однако система *E. coli* остается наиболее экономически эффективной и масштабируемой платформой, что критически важно для производства доступных тест-систем. Отечественными исследователями был разработан ряд генетических конструкций для экспрессии белка G, однако большинство исследований фокусировалось либо на создании кандидатных генно-инженерных вакцин, либо на экспрессии отдельных фрагментов генома [15, 16]. Тем не менее, сравнительный анализ эффективности экспрессии обоих антигенов – G и N – в рамках единой технологической платформы *E. coli* с акцентом на диагностическое применение требует дальнейшей проработки. Переход на рекомбинантный синтез антигенов вируса бешенства не только исключает риск работы с патогенным биологическим агентом, но и позволяет получить стандартизированный продукт высокой степени очистки, свободный от балластных белков клеточных культур.

Целью настоящей работы явилась разработка подхода к экспрессии белков G и N вируса бешенства в прокариотической (*E. coli*) системе, а также оценка технологических особенностей и антигенного потенциала полученных продуктов.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе лаборатории вирусных антропонозов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в период с сентября по декабрь 2025 г.

Биоинформационный анализ и дизайн генетических конструкций. Анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей G и N проводили с использованием базы данных GenBank (NCBI, NIH, США). Предсказание физико-химических свойств белков (молекулярная масса, теоретическая pI, гидроксипатичность по шкале GRAVY) осуществляли с помощью онлайн-инструмента ProtParam (ExPASy, Швейцария). Анализ трансмембранных доменов и сигнальных пептидов выполняли с использованием алгоритмов TMHMM v.2.0 и SignalP 5.0 соответственно (DTU Health Tech, Дания). На основании полученных данных были спроектированы нуклеотидные последовательности, кодирующие усеченные варианты антигенов G и N. Для оптимизации уровня экспрессии в гетерологичной системе проводили кодонную оптимизацию под организм *E. coli* с использованием инструмента GeneOptimizer (Thermo Fisher Scientific, США). Синтез генов осуществлялся на аутсорсе (ЗАО «Евроген», Россия).

Конструирование плазмидных векторов. Синтезированные фрагменты ДНК клонировали в экспрессионный вектор pET-28a (+) (Novagen, США) по сайтам рестрикции *Bam*HI и *Xho*I. Данная стратегия обеспечивала слияние целевой последовательности с N-концевой гексагистидиновой меткой (6xHis-tag) для последующей аффинной очистки и иммунодетекции. Полученными рекомбинантными плазмидами трансформировали компетентные клетки *E. coli* коммерческого штамма BL21(DE3) pLysS (Novagen, США) методом теплового шока (42°C, 45 сек). Отбор клонов проводили на агаризованной среде LB, содержащей 50 мкг/мл канамицина. Наличие вставки подтверждали секвенированием по Сэнгеру с использованием универсальных праймеров к промотору T7 и терминатору T7.

Трансформация штаммов-продуцентов и условия культивирования. Верифицированные плазмидные конструкции (pET-28a (+)-G-ecto и pET-28a(+)-N-tr) использовали для трансформации экспрессионного штамма *E. coli* BL21(DE3) pLysS. Для тестовой экспрессии ночную культуру разводили в соотношении 1:100 в свежей среде LB с канамицином (50 мкг/мл) и инкубировали при 37°C и интенсивном перемешивании (200 об/мин) до достижения оптической плотности OD₆₀₀ 0,6-0,8 ОЕ. Индукцию экспрессии целевых генов инициировали добавлением изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ) до конечной концентрации 0,5 мМ.

Скрининг растворимости и оптимизация экспрессии. Для оценки растворимости белков проводили индукцию в различных температурных режимах: 37 °C (4 ч), 25 °C (6 ч) и 18 °C (16 ч). По окончании инкубации клетки осаждали центрифугированием (5000 g, 10 мин) и ресуспендировали в буфере для лизиса (50 мМ NaH₂PO₄, 300 мМ NaCl, 10 мМ имидазол, pH 8,0), содержащем 1 мг/мл лизоцима. Лизис проводили методом ультразвуковой дезинтеграции (амплитуда – 100 %, импульс – 60 с, пауза – 120 с, количество циклов – 5) на льду. Лизат центрифугировали при 12000 g (20 мин, 4 °C). Супернатант (растворимая фракция) и осадок (тельца включения, ресуспендированные в буфере с 8 М мочевиной) анализировали отдельно.

Хроматографическая очистка рекомбинантных белков. Очистку белков проводили методом металл-хелатной аффинной хроматографии (ИМАС) на колонках с Ni-NTA агарозой (Qiagen, Германия) в гравитационном режиме. Для растворимого белка N лизат наносили на уравновешенную ко-

лонку, несвязавшиеся белки удаляли промывочным буфером (50 мМ NaH_2PO_4 , 300 мМ NaCl , 20 мМ имидазола, pH 8,0). Элюцию проводили ступенчатым градиентом имидазола (50, 100, 250, 500 мМ). Для белка G (из телец включения) очистку проводили в денатурирующих условиях. Лизис и связывание осуществляли в буфере, содержащем 8 М мочевины (pH 8,0). Промывку проводили буфером с 8 М мочевиной (pH 6,3), элюцию – буфером с 8 М мочевиной (pH 4,5). Полученные фракции подвергали рефолдингу путем ступенчатого диализа против фосфатно-буферного раствора с понижением концентрации мочевины (6 М, 4 М, 2 М, 1 М, 0 М). Анализ чистоты препаратов и молекулярной массы белков проводили методом электрофореза в 12% полиакриламидном геле в денатурирующих условиях по Лэммли [17] с проведением последующего вестерн-блоттинга, где в качестве первичных антител использовали антирабическую гипериммунную сыворотку овцы (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ») в разведении 1:1000 [18], в качестве вторичных антител – кроличьи антитела против IgG овцы, конъюгированные с пероксидазой хрена (Sigma, США) в разведении 1:20000.

Оценка антигенной активности в ИФА. Иммунореактивность полученных рекомбинантных антигенов оценивали в антигенном варианте твердофазного иммуноферментного анализа («сэндвич»-ИФА). Эксперимент проводили с использованием компонентов «Набора препаратов для лабораторной диагностики бешенства животных методом иммуноферментного анализа (ИФА)» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ») согласно инструкции производителя [19]. ОП измеряли на спектрофотометре «Model 680» (Bio-Rad, США) при длине волны 450 нм. Образцы считали положительными, если значение ОП превышало значение ОП отрицательного контроля (S/N) в 2 и более раза.

Результаты исследований и их обсуждение. На первом этапе исследования был проведен сравнительный *in silico* анализ аминокислотных последовательностей и предсказанных вторичных структур белков G и N вируса бешенства. Задачей данного этапа стало выявление структурных особенностей, потенциально лимитирующих гетерологичную экспрессию в системе *E. coli*, и определение границ доменов для конструирования экспрессионных векторов.

Анализ гидропатического профиля и предсказание трансмембранных областей показали фундаментальные различия в структуре двух антигенов. Гликопротеин G классифицируется как мембранный белок I типа; было выявлено наличие N-концевого сигнального пептида, отвечающего за транслокацию в эндоплазматический ретикулум в эукариотической клетке, и выраженного гидрофобного трансмембранного домена в С-концевой части, за которым следует короткий цитоплазматический хвост. Наличие этих гидрофобных участков в *E. coli* неизбежно приводит к токсичности для клетки-хозяина или агрегации продукта в нерастворимые тельца включения. Кроме того, нативная структура G стабилизирована дисульфидными связями, формирование которых в восстановительной среде бактериальной цитоплазмы затруднено. Белок N, напротив, классифицируется как растворимый цитозольный белок: биоинформационный анализ не выявил сигнальных последовательностей или трансмембранных доменов. Однако N обладает способностью к олигомеризации (формированию нуклеокапсидных структур) и связыванию с РНК, что также может способствовать переходу белка в нерастворимую фракцию при гиперэкспрессии. Результаты сравнительного анализа потенциальных препятствий для экспрессии антигенов вируса бешенства в системе *E. coli* суммированы в таблице 1.

Опираясь на данные прогнозирования, была сформулирована следующая инженерная стратегия для получения рекомбинантных антигенов G и N:

- Для белка G: экспрессия полноразмерного гена нецелесообразна из-за наличия токсичных гидрофобных участков. Для обеспечения растворимости и корректного фолдинга принято решение удалить N-концевой сигнальный пептид и С-концевой трансмембранный домен вместе с цитоплазматическим хвостом. В качестве целевого фрагмента выбран эктодомен гликопротеина (20-200 а.о.), содержащий ключевые конформационные и линейные эпитопы, необходимые для распознавания антителами.

- Для белка N: учитывая отсутствие трансмембранных доменов и высокую гидрофильность, для экспрессии выбрана полноразмерная последовательность гена N. Такой подход позволяет сохранить все антигенные детерминанты белка, обеспечивая максимальную чувствительность разрабатываемых диагностикомов.

Таким образом, для дальнейшей работы были спроектированы генетические конструкции, кодирующие усеченные варианты белка G (G-ecto) и нуклеопротеина (N-tr). На основании выбранной стратегии были получены две экспрессионные плазмиды на основе коммерческого вектора pET-28a(+), содержащие кодон-оптимизированные последовательности генов вируса бешенства. Характеристики конструкций и кодируемых ими белков представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика белков G и N вируса бешенства *in silico* и прогнозируемые технологические риски

Параметр	Гликопротеин G	Нуклеопротеин N
Локализация и функция	Поверхностный мембранный белок; Связывание с рецептором клетки, индукция ВНА	Внутренний белок нуклеокапсида; Защита вирусной РНК, регуляция транскрипции/репликации
Структурная организация	Тример. Содержит сигнальный пептид, эктодомен, трансмембранный домен, цитоплазматический хвост	Мономер/олигомер. Состоит из N- и C-концевых доменов, разделенных гибким линкером
Гидрофобные участки	Выражены (сигнальный пептид и трансмембранный домен)	Отсутствуют (белок гидрофилен)
Посттрансляционные модификации	N-гликозилирование (критично для фолдинга в эукариотах), пальмитилирование	Фосфорилирование (некритично для бактериальной экспрессии, но влияет на связывание с РНК)
Консервативность аминокислотной последовательности	Вариабельная (особенно в антигенных сайтах), зависит от штамма	Высокая (идеально для кросс-диагностики)
Цистеин и дисульфидные связи	Высокое содержание цистеина. Требуется формирование S-S мостиков для нативной конформации	Низкое содержание цистеина. Менее зависим от окислительного потенциала среды
Ключевой риск для <i>E. coli</i>	Токсичность гидрофобных доменов, неправильный фолдинг (отсутствие гликозилирования), образование ТВ	Неконтролируемая агрегация, связывание с РНК, метаболическая нагрузка

Таблица 2 – Характеристика рекомбинантных плазмид и физико-химические параметры целевых антигенов

Параметр	pET-28a(+)-G-ecto	pET-28a(+)-N-tr
Целевой белок	Эктодомен гликопротеина G (227-364 а.о.)	Фрагмент нуклеопротеина N (60-220 а.о.)
Сайты клонирования	<i>Bam</i> HI/ <i>Xho</i> I	
Аффинная метка	6xHis (C-концевая)	
Длина полипептида, а.о.	131	220
Прогнозируемая молекулярная масса, кДа	15,145	24,899
Теоретическая изоэлектрическая точка (pI)	8,52	5,54
Суммарный заряд при pH 7,0	3,3	– 5,7
Индекс нестабильности	47,12 (условно нестабильный)	24,95 (стабильный)
Индекс алифатичности	84,72	82,5
GRAVY	–0,297 (хорошая растворимость)	–0,145 (плохая растворимость)

Существенная разница в значениях pI усеченных вариантов антигенов диктует необходимость использования различных буферных систем на этапах ионообменной хроматографии, однако для металл-хелатной хроматографии использование стандартных буферов является безопасным для обоих белков, так как они будут находиться в заряженном состоянии, достаточном для растворимости. Отрицательное значение индекса GRAVY для фрагмента белка G подтверждает его гидрофильную при-

роду; вероятно, удаление трансмембранного домена снизило гидрофобный потенциал молекулы, что повышает вероятность ее частичной экспрессии в *E. coli* в растворимой форме.

Для достижения максимального выхода целевых продуктов был проведен скрининг условий культивирования штаммов-продуцентов *E. coli* BL21(DE3). Варьировались температура индукции (37 °C, 25 °C, 18 °C), концентрация индуктора ИПТГ (от 0,1 до 1,0 мМ) и время пост-индукционного роста (4-16 ч). Полученные лизаты и очищенные препараты анализировали методами вестерн-блоттинга и непрямого твердофазного ИФА. В случае с обеими конструкциями наблюдался высокий уровень биосинтеза целевых антигенов: при индукции 0,5-1 мМ ИПТГ средний выход белка составлял 33-34 мг/л – для белка G и 20-22 мг/л – для белка N. Даже при оптимизированных условиях культивирования (пониженная температура) рекомбинантный белок G-ecto практически полностью агрегировал в ТВ, что потребовало в дальнейшем жестких условий солюбилизации (буферы с добавлением 8 М мочевины либо 6 М гуанидина гидрохлорида) с последующим рефолдингом. При культивировании штамма – продуцента белка N-tr при температуре 18 °C удавалось добиться повышения растворимой фракции до 15 % от общего объема рекомбинантного белка (по данным денситометрии).

Для оценки иммунореактивности полученных белков в качестве диагностических антигенов был проведен «сэндвич»-ИФА с использованием коммерческого набора производства ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». В качестве положительного антигенного контроля использовали инактивированный концентрат нативного вируса бешенства (цельновиреонный антиген). Результаты продемонстрировали сопоставимые уровни иммунореактивности белков (рисунок 1).

Рисунок 1 – Сравнительная иммунореактивность нативного и рекомбинантных антигенов вируса бешенства в «сэндвич»-ИФА с антирабической гипериммунной сывороткой. Все антигены исследованы в первоначальной концентрации 0,5 мг/мл

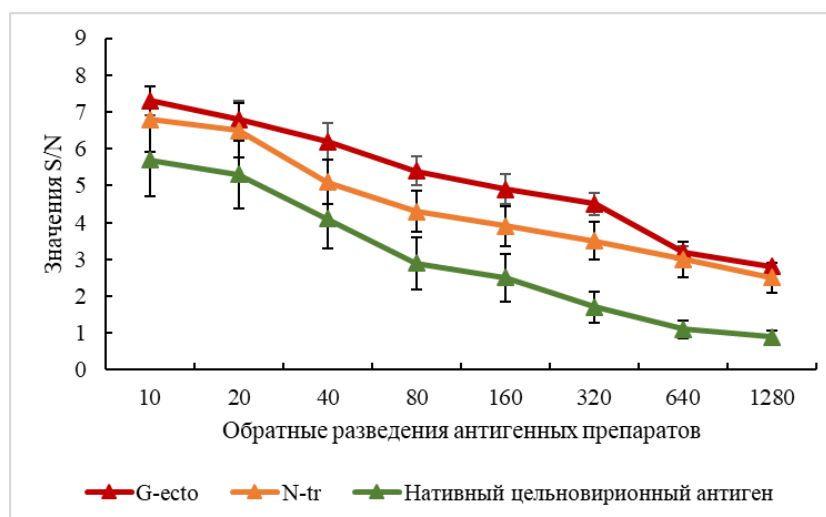


График демонстрирует, что оба рекомбинантных белка отличаются высокой специфической активностью, сопоставимой с таковой нативного вирусного антигена. Кривые титрования референтной сыворотки на планшетах с G-ecto, N-tr и цельновиреонным антигеном имели схожий профиль, что может указывать на сохранность основных эпитопов в структуре рекомбинантных антигенов прокариотического происхождения.

Заключение. Проведенное сравнительное исследование экспрессии иммунодоминантных антигенов вируса бешенства в системе *E. coli* продемонстрировало пригодность последней для получения антигенно активных аналогов белков G и N для дальнейшего применения в диагностических целях. Полученные результаты позволяют рассматривать рекомбинантные белки G-ecto и N-tr в качестве основы для создания массовых и доступных диагностических тестов. Относительно высокий выход продуктов, возможность получения растворимой формы белка (для белка N), сохранение структуры линейных эпитопов, сопоставимой с таковой цельновиреонного антигена, позволяют рекомендовать описанные рекомбинантные белки, полученные в *E. coli*, для замены дорогостоящих и биологически небезопасных вирусных лизатов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Татарстан, проект № 90-2025-013048 «Разработка ИФА-теста для обнаружения антител к вирусу бешенства в крови плотоядных» (2025-2026 гг.).

Список источников

1. Baker H.J., Martin D.R., Gross A.L., Chamorro M.F., Naskou M.C., Johnson A.K., Brock K.V., Van Kampen K.R., Willoughby R.E. Rabies: who should care? *J Am Vet Med Assoc.* 2022; 261(4):592-596. DOI: 10.2460/javma.22.09.0420. PMID: 36476414.
2. Kaye A.D., Perilloux D.M., Field E., Orvin C.A., Zaheri S.C., Upshaw W.C., Behara R., Parker-Actlis T.Q., Kaye A.M., Ahmadzadeh S., Shekoohi S., Varrassi G. Rabies Vaccine for Prophylaxis and Treatment of Rabies: A Narrative Review. *Cureus.* 2024; 16(6):e62429. DOI: 10.7759/cureus.62429.
3. Ashwini M.A., Pattanaik A., Mani R.S. Recent updates on laboratory diagnosis of rabies. *Indian J Med Res.* 2024; 159(1):48-61. DOI: 10.4103/ijmr.ijmr_131_23.
4. Савенкова А.А., Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Никифоров А.К. Современное состояние пассивной иммунопрофилактики бешенства. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2025; 28(2): 31-39. DOI: 10.29296/25877313-2025-02-05.
5. Гаврилова Ю. К., Генералов С. В., Абрамова Е. Г., Никифоров А. К. Методы *in vitro* для выявления вируса бешенства и оценка их использования в производстве антирабического иммуноглобулина. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2021; 21(2): 76-84. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-2-76-84.
6. Realegeno S., Niezgoda M., Yager P.A., Kumar A., Hoque L., Orciari L., Sambhara S., Olson V.A., Satheshkumar P.S. An ELISA-based method for detection of rabies virus nucleoprotein-specific antibodies in human antemortem samples. *PLoS One.* 2018; 13(11):e0207009. DOI: 10.1371/journal.pone.0207009.
7. Luo T.R., Minamoto N., Hishida M., Yamamoto K., Fujise T., Hiraga S., Ito N., Sugiyama M., Kinjo T. Antigenic and functional analyses of glycoprotein of rabies virus using monoclonal antibodies. *Microbiol Immunol.* 1998; 42(3):187-93. DOI: 10.1111/j.1348-0421.1998.tb02270.x.
8. Singh A., Yadav D., Rai K.M., Srivastava M., Verma P.C., Singh P.K., Tuli R. Enhanced expression of rabies virus surface G-protein in *Escherichia coli* using SUMO fusion. *Protein J.* 2012; 31(1):68-74. DOI: 10.1007/s10930-011-9373-6.
9. Mehta S., Charan P., Dahake R., Mukherjee S., Chowdhary A. Molecular characterization of nucleoprotein gene of rabies virus from Maharashtra, India. *J Postgrad Med.* 2016; 62(2):105-8. DOI: 10.4103/0022-3859.175006.
10. Realegeno S., Niezgoda M., Yager P.A., Kumar A., Hoque L., Orciari L., Sambhara S., Olson V.A., Satheshkumar P.S. An ELISA-based method for detection of rabies virus nucleoprotein-specific antibodies in human antemortem samples. *PLoS One.* 2018; 13(11):e0207009. DOI: 10.1371/journal.pone.0207009.
11. Tursunov K., Begaliyeva A., Ingirbay B., Mukanov K., Ramanculov E., Shustov A., Mukantayev K. Cloning and expression of fragment of the rabies virus nucleoprotein gene in *Escherichia coli* and evaluation of antigenicity of the expression product. *Iran J Vet Res.* 2017; 18(1):36-42. PMID: 28588631; PMCID: PMC5454577.
12. Yang D.K., Kim H.H., Lee K.W., Song J.Y. The present and future of rabies vaccine in animals. *Clin Exp Vaccine Res.* 2013; 2(1):19-25. DOI: 10.7774/cevr.2013.2.1.19.
13. Седова Е.С., Шмаров М.М. Новые антирабические рекомбинантные вакцины. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2016; 16 (4(60)): 219-228.
14. Доронин М.И., Мазлум А., Михалишин Д.В., Митрофанова М.Н., Сухарьков А.Ю., Киселева В.В., Спрыгин А.В. Современные подходы к созданию безопасных и эффективных генно-инженерных антирабических вакцин для животных. *Ветеринария сегодня.* 2023; 12(1):6-12. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-6-12
15. Грабко В.И. Фрагмент ДНК, кодирующий синтез гликопротеина G вируса бешенства, рекомбинантная плазмидная ДНК pvg18-1, кодирующая гликопротеин G вируса бешенства, штамм бактерий *Escherichia coli* – продуцент гликопротеина G вируса бешенства. Патент № 2008355 РФ, МПК C12H5/70, C12H5/23; опубл. 28.02.94.
16. Стародубова Е.С., Кузьменко Ю.В., Латанова А.А., Преображенская О.В., Карпов В.Л. Создание ДНК-вакцинного вектора на основе кодон-оптимизированного гена гликопротеина (белка G) вируса бешенства с консенсусной аминокислотной последовательностью. *Молекулярная биология.* 2016; 50(2): 376-380. DOI: 10.7868/S0026898416020245.

17. Cannon-Carlson S., Tang J. Modification of the Laemmli sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis procedure to eliminate artifacts on reducing and nonreducing gels. *Anal Biochem.* 1997; 246(1):146-148. DOI: 10.1006/abio.1997.2002.
18. Ахмадеев Р.М., Мухамеджанова А.Г., Мифтахов Н.Р., Насыров Ш.М., Самерханов И.И., Алеева З.З., Арутюнян Г.С., Яруллина Г.М. Получение антигена вируса бешенства методом трехфазной экстракции. *Ветеринарный врач.* 2020; 5:26-33. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-5-26-33.
19. Мухамеджанова А.Г., Ахмадеев Р.М., Мифтахов Н.Р., Насыров Ш.М., Алеева З.З., Яруллина Г.М., Арутюнян Г.С. Оптимизация схем гипериммунизации животных высокоочищенным антигеном вируса бешенства. *Ветеринария.* 2020; 10:25-29. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.10.25-29.

References

1. Baker H.J., Martin D.R., Gross A.L., Chamorro M.F., Naskou M.C., Johnson A.K., Brock K.V., Van Kampen K.R., Willoughby R.E. Rabies: who should care? *J Am Vet Med Assoc.* 2022; 261(4):592-596. DOI: 10.2460/javma.22.09.0420. PMID: 36476414.
2. Kaye A.D., Perilloux D.M., Field E., Orvin C.A., Zaheri S.C., Upshaw W.C., Behara R., Parker-Actlis T.Q., Kaye A.M., Ahmadzadeh S., Shekoochi S., Varrassi G. Rabies Vaccine for Prophylaxis and Treatment of Rabies: A Narrative Review. *Cureus.* 2024; 16(6):e62429. DOI: 10.7759/cureus.62429.
3. Ashwini M.A., Pattanaik A., Mani R.S. Recent updates on laboratory diagnosis of rabies. *Indian J Med Res.* 2024; 159(1):48-61. DOI: 10.4103/ijmr.ijmr_131_23.
4. Savenkova A.A., Generalov S.V., Abramova E.G., Shulgina I.V., Lobovikova O.A., Nikiforov A.K. The current state of passive rabies immunoprophylaxis. Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2025; 28(2): 31-39. DOI: 10.29296/25877313-2025-02-05.
5. Gavrilova Yu.K., Generalov S. V., Abramova E. G., Nikiforov A. K. In vitro methods for rabies virus detection and evaluation of their use in the production of rabies immunoglobulin. Biological products. Prevention, diagnosis, and treatment. 2021; 21(2): 76-84. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-2-76-84.
6. Realegeno S., Niezgoda M., Yager P.A., Kumar A., Hoque L., Orciari L., Sambhara S., Olson V.A., Satheshkumar P.S. An ELISA-based method for detection of rabies virus nucleoprotein-specific antibodies in human antemortem samples. *PLoS One.* 2018; 13(11):e0207009. DOI: 10.1371/journal.pone.0207009.
7. Luo T.R., Minamoto N., Hishida M., Yamamoto K., Fujise T., Hiraga S., Ito N., Sugiyama M., Kinjo T. Antigenic and functional analyses of glycoprotein of rabies virus using monoclonal antibodies. *Microbiol Immunol.* 1998; 42(3):187-93. DOI: 10.1111/j.1348-0421.1998.tb02270.x.
8. Singh A., Yadav D., Rai K.M., Srivastava M., Verma P.C., Singh P.K., Tuli R. Enhanced expression of rabies virus surface G-protein in *Escherichia coli* using SUMO fusion. *Protein J.* 2012; 31(1):68-74. DOI: 10.1007/s10930-011-9373-6.
9. Mehta S., Charan P., Dahake R., Mukherjee S., Chowdhary A. Molecular characterization of nucleoprotein gene of rabies virus from Maharashtra, India. *J Postgrad Med.* 2016; 62(2):105-8. DOI: 10.4103/0022-3859.175006.
10. Realegeno S., Niezgoda M., Yager P.A., Kumar A., Hoque L., Orciari L., Sambhara S., Olson V.A., Satheshkumar P.S. An ELISA-based method for detection of rabies virus nucleoprotein-specific antibodies in human antemortem samples. *PLoS One.* 2018; 13(11):e0207009. DOI: 10.1371/journal.pone.0207009.
11. Tursunov K., Begaliyeva A., Ingirbay B., Mukanov K., Ramanculov E., Shustov A., Mukantayev K. Cloning and expression of fragment of the rabies virus nucleoprotein gene in *Escherichia coli* and evaluation of antigenicity of the expression product. *Iran J Vet Res.* 2017; 18(1):36-42. PMID: 28588631; PMCID: PMC5454577.
12. Yang D.K., Kim H.H., Lee K.W., Song J.Y. The present and future of rabies vaccine in animals. *Clin Exp Vaccine Res.* 2013; 2(1):19-25. DOI: 10.7774/cevr.2013.2.1.19.
13. Sedova E.S., Shmarov M.M. New rabies recombinant vaccines. Biological products. Prevention, diagnosis, and treatment. 2016; 16 (4(60)): 219-228.
14. Doronin M.I., Mazlum A., Mikhailishin D.V., Mitrofanova M.N., Sukharkov A.Yu., Kiseleva V.V., Sprygin A.V. Modern approaches to the creation of safe and effective genetically engineered rabies vaccines for animals. *Veterinary medicine today.* 2023; 12(1):6-12. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-6-12
15. Grabko V.I. DNA fragment encoding the synthesis of glycoprotein G of rabies virus, recombinant plasmid DNA pvg18-1 encoding glycoprotein G of rabies virus, bacterial strain *Escherichia coli*, producer of

- glycoprotein G of rabies virus. Patent No. 2008355 of the Russian Federation, IPC S12SH5/70, S12SH5/23; published on 02/28/94.
16. Starodubova E.S., Kuzmenko Yu.V., Latanova A.A., Preobrazhenskaya O.V., Karpov V.L. Creation of a DNA vaccine vector based on a codon-optimized gene for glycoprotein (protein G) of rabies virus with a consensus amino acid sequence. *Molecular biology*. 2016; 50(2): 376-380. DOI: 10.7868/S0026898416020245.
 17. Cannon-Carlson S., Tang J. Modification of the Laemmli sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis procedure to eliminate artifacts on reducing and nonreducing gels. *Anal Biochem*. 1997; 246(1):146-148. DOI: 10.1006/abio.1997.2002.
 18. Akhmadeev R.M., Mukhamedzhanova A.G., Miftakhov N.R., Nasyrov Sh.M., Samerkhanov I.I., Aleeva Z.Z., Harutyunyan G.S., Yarullina G.M. Obtaining rabies virus antigen by three-phase extraction. *Veterinarian*. 2020; 5:26-33. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-5-26-33.
 19. Mukhamedzhanova A.G., Akhmadeev R.M., Miftakhov N.R., Nasyrov Sh.M., Aleeva Z.Z., Yarullina G.M., Harutyunyan G.S. Optimization of animal hyperimmunization schemes with highly purified rabies virus antigen. *Veterinary medicine*. 2020; 10:25-29. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.10.25-29.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 03.06.2026;

© Галеева А. Г., Кузнецова Ю. А., Ахунова А. Р., Алеева З. З., Хаммадов Н. И., Ахмадеев Р. М., Ефимова М. А. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 61 – 67
The Veterinarian. 2026; (3): 61 – 67

Научная статья
УДК 619:615.076: 638. 135
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_61

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ПРОПОЛИСА

Альберт Камилович Галиуллин, доктор ветеринарных наук, профессор, albert-954@mail.ru
Ренат Алиевич Волков, кандидат биологических наук, доцент, volkovrnt@gmail.com
Эльвира Адиповна Магдеева, кандидат ветеринарных наук, magdeeva.e@yandex.ru
Светлана Аркадьевна Семёнова, кандидат ветеринарных наук, lanochka-vet@mail.ru
Юлия Викторовна Красовская, кандидат биологических наук, ucheb_ot_kgavm@mail.ru
Айгуль Юсуповна Шаева, кандидат биологических наук, доцент, a-shaeva@mail.ru

Казанский государственный аграрный университет, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Альберт Камилович Галиуллин.

Аннотация. Целью представленной работы стало проведение ретроспективного анализа антимикробных свойств прополиса, хранившиеся в музее кафедры микробиологии и биотехнологии Казанской академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана и обосновать критерии стандартизации прополиса как сырья для производства лекарственных средств. Оценка пригодности прополиса проводили, используя методы органолептического и физико-химического анализа. Разделение прополиса на биологические фракции проводили 96% этиловым спиртом, согласно ГОСТу. Экстрагированные компоненты стандартизировали по его количеству в пробе прополиса, доводя его уровень до 100 мг/мл. Прополис по своей природе представляет собой сложный комплекс органических соединений, относящихся к различным классам химических веществ, что обуславливает его антимикробное действие. Исследования показали, что высокая чувствительность к прополису проявили *S. aureus* и *M. tuberculosis* в концентрации 100 и 500 мг/мл, *B. cereus* был более устойчив, его инактивацию наблюдали в концентрации прополиса 5000 мг/мл в течение 24 часов. Грамотрицательные микроорганизмы показали низкую чувствительность к прополису: *E. coli* – 5000 мг/мл; *S. enterica* – 2500 мг/мл; *P. vulgaris* и *P. aeruginosa* – 5000 мг/мл, соответственно. Образцы прополиса, собранные в различных регионах, имеют относительно стабильную антимикробную активность. При хранении в условиях холодильника (4-6 °C), прополис не теряет антимикробной активности в течение 10 лет (срок наблюдения) и при многократном пересеве на питательные среды не приобретает устойчивости к тест-микробам. Воск, отделенный от прополиса, обладает выраженной бактерицидностью, что обусловлено наличием в нем бальзамических веществ. Таким образом, можно предположить, что эфирные масла и флавоноидные соединения, сохранившиеся в прополисе, обладают антимикробной активностью по отношению грамположительным и менее грамотрицательным микроорганизмам и могут служить критерием для стандартизации лекарственных препаратов, изготавливаемых из прополиса.

Ключевые слова: прополис, антимикробные свойства, лекарственное сырье, экстрактивные вещества, тест-микробы

Для цитирования: Галиуллин А. К., Волков Р. А., Магдеева Э. А., Семёнова С. А., Красовская Ю. В., Шаева А. Ю. Ретроспективный анализ антимикробных свойств прополиса // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 61 – 67. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_61

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PROPOLIS

Albert K. Galiullin, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, albert-954@mail.ru
Renat A. Volkov, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, volkovrnt@gmail.com
Elvira A. Magdeeva, Candidate of Veterinary Sciences, magdeeva.e@yandex.ru
Svetlana A. Semenova, Candidate of Veterinary Sciences, lanochka-vet@mail.ru
Iuliia V. Krasovskia, Candidate of Biological Sciences, ucheb_ot_kgavm@mail.ru
Aigul Yu. Shaeva, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, a-shaeva@mail.ru

Corresponding author: Albert Kamilovich Galiullin.

Abstract. The aim of this study was to retrospectively analyze the antimicrobial properties of propolis stored in the museum of the Department of Microbiology and Biotechnology of the Kazan Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman and to substantiate criteria for standardizing propolis as a raw material for medicinal production. The suitability of propolis was assessed using organoleptic and physicochemical analysis. Propolis was separated into biological fractions using 96% ethyl alcohol, according to GOST standards. The extracted components were standardized based on their content in the propolis sample, bringing its level to 100 mg/ml. Propolis is a complex mixture of organic compounds belonging to various chemical classes, which determines its antimicrobial action. Studies have shown that *S. aureus* and *M. tuberculosis* exhibited high sensitivity to propolis at concentrations of 100 and 500 mg/ml, *B. cereus* was more resistant, its inactivation was observed at a propolis concentration of 5000 mg/ml for 24 hours. Gram-negative microorganisms showed low sensitivity to propolis: *E. coli* - 5000 mg/ml; *S. enterica* - 2500 mg/ml; *P. vulgaris* and *P. aeruginosa* - 5000 mg/ml, respectively. Propolis samples collected in different regions have relatively stable antimicrobial activity. When stored in a refrigerator (4-6 °C), propolis does not lose antimicrobial activity for 10 years (observation period) and does not acquire resistance to test microbes with multiple subcultures on nutrient media. Wax separated from propolis has pronounced bactericidal properties, due to the presence of balsamic substances. Therefore, it can be assumed that the essential oils and flavonoid compounds preserved in propolis possess antimicrobial activity against gram-positive and less gram-negative microorganisms and can serve as a criterion for the standardization of medicinal products made from propolis.

Keywords: propolis, antimicrobial properties, medicinal raw material, extractive substances, test microbes

Введение. В настоящее время отсутствует Международный стандарт на прополис-сырье. Причиной тому, в гетерогенности химического состава прополиса, получаемого из различных географических широт и отсутствие юридического статуса на прополис, как сырья для производства лекарственных препаратов. Разработанный ранее российский стандарт (ГОСТ 28886-2019) был отвергнут Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), из-за несоответствия к международным требованиям для производства лекарственных препаратов. Следовательно, вопрос о разработке международного стандарта на прополис остается открытым. Перед научным сообществом стоит новая задача, в создании новой системы стандартизации прополиса, которая позволила бы дифференцировать и идентифицировать химически составляющие компоненты прополиса, несущие в себе бактерицидность.

Большая заслуга в изучении антимикробных свойств прополиса принадлежит Кивалкиной В.П. (1947-1991), Барскову А.А. (1958-2010), Госманову Р.Г., и др. (1988-2014). Авторами установлено антимикробное действие более 50 видов прополиса, доставленных из различных регионов СССР и Российской Федерации. Ими изучено антимикробное действие экстрагированного водного, спиртового, ацетонового и бензинового прополиса, воска и продукта сухой перегонки. Разработаны большое количество лекарственных соединений из прополиса и описаны их механизмы действия, что позволили им создать противовоспалительные и антимикробные препараты.

Из литературных источников известно, что прополис, собранный из различных географических зон, отличается химическим составом [1]. Прополис средних широт, в основном тополиный и березовый, содержит в своем составе флаваноны и флавоны. Бразильский зеленый прополис богат производными паракумаровой кислоты. Следовательно, прополис, собранный из различных регионов, должен отличаться по антимикробным свойствам, так как должен быть и разный его химический состав [2, 3]. Поэтому, представляет интерес изучения бактерицидной активности нативного прополиса и его соединений, полученными путем экстракции различными растворителями.

Цель работы – провести ретроспективный анализ антимикробных свойств прополиса, хранившиеся в музее кафедры микробиологии института «Казанская академия ветеринарной медицины» и обосновать критерии стандартизации прополиса как сырья для производства лекарственных средств.

Материалы и методы. В работе использовали прополис, хранившийся в музее кафедры микробиологии и биотехнологии института «Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» с 2013 года. Оценку пригодности прополиса как сырья для изготовления лекарственных средств применили физико-химические и биологические методы. Прежде всего оценку начинали с

органолептических и физических параметров, далее с изучения химического состава (содержание воска, экстрактивных веществ и сопутствующих примесей) и заканчивали с изучением антимикробного действия [4].

В своих исследованиях и при обзоре литературных источников, воспользовались национальным стандартом ГОСТ 31772-2012 «Прополис. Антимикробная активность» [5]. Технические условия, предназначенные для использования при изготовлении лекарственных препаратов, разработанные ФГБНУ «Федеральный научный центр пчеловодства».

Выделение естественных биологических фракций проводили 96% этиловым спиртом, что позволило разделить их на две фракции: экстрактивные вещества - растворимые в этиловом спирте. Количество которого определяли путем взвешивания, согласно ГОСТу. Данную фракцию использовали для определения бактерицидных свойств; вторая фракция - механические компоненты, которую использовали для выделения воска со смесью ацетона и хлороформа в соотношении 1к2, его количество определяли путем взвешивания на весах [6], т.е. содержание механического компонента прополиса определяли на основании балансового содержания, разницей между навески массы воска и растворимых веществ. Экстрактивные вещества стандартизировали по его количеству в образце прополиса, доводя его уровень до 100 мг/мл.

Методики экстрагирования биологически активных компонентов прополиса:

-экстракция растворителями, такими как спирт, ацетон, бензин. Для этого прополис измельчали и растворяли в одном из вышеперечисленных растворителей, а затем выпаривали экстрагенты на воздухе в коллоидных мешках;

-экстракция водой. Прополис измельчали, заливали водой, экстрагировали в водяной бане при температуре 80-85 °С и фильтровали [7, 8, 9].

В соответствии с Российскими требованиями в качестве тест-микробов для оценки бактерицидности прополиса применили: *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *M. tuberculosis*. Количество тест-микробов, взятых в опыт, соответствовало: для вегетативных – 1×10^9 КОЕ/мл и спорообразующих – 1×10^7 спор/ мл.

Бактерицидность прополиса изучали посевом тест-микробов на питательные среды: *S. aureus* - МПА с 15% хлорида натрия; *B. cereus* – МПА и МПБ; *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* – МПА, МПБ и Эндо; *M. tuberculosis* – среда Петраньяни.

Результаты исследований и их обсуждение. Антимикробную активность прополиса устанавливали на плотных и жидких питательных средах. Для этого в 100 мл питательной среды растворяли при подогревании (80-85°С) нативный прополис весом 50, 100, 200 и 300 мг. После остывания, в питательную среду вносили тест-микробы в рабочих концентрациях и термостатировали при 37°С в течение 7 суток. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Антимикробные свойства прополиса

Тест-микробы	Количество прополиса в питательной среде в мг.			
	50	100	200	300
<i>S. aureus</i>	+	-	-	-
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	-	-
<i>B. cereus</i>	+	+	+	-
<i>E. coli</i>	+	+	+	-
<i>S. enterica</i>	+	+	-	-
<i>P. vulgaris</i>	+	+	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	-	-

Примечания: «+» рост микроорганизмов; «-» отсутствие роста

Как показали результаты этих опытов, тест-микробы оставались жизнеспособными в пробах с содержанием прополиса 50 мг. В пробирках же с 200 и 300 мг прополиса тест-микробы не прорастали. В мясопептонном бульоне содержанием 100 мг прополиса рост *S. aureus* и *M. tuberculosis* в 200 мг., как правила, не происходило. В то же время, при внесении в питательные среды с прополисом спорообразующих бактерий рост последних отмечался, за исключением более высоких концентраций прополиса (300 мг.).

Следующий опыт был посвящён на установление экспозиции бактерицидного действия прополиса на микроорганизмы. Для этого были использованы тест-микробы, инкубированные на жидких питательных средах с 300 мг прополиса, с последующим пересевом на МПА, через определенный проме-

жуток времени. Контролем опытов служили пересевы на питательные среды, сделанные с жидких питательных сред с парафином в тех же концентрациях. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Бактерицидное действие нативного прополиса в экспозиции

Тест-микробы	Время отсутствия роста бактерий							
	Минуты			Часы				
	10	20	30	1	2	4	8	24
<i>S. aureus</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>S. enterica</i>	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>P. vulgaris</i>	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	-	-

Примечания: «+» рост микроорганизмов; «-» отсутствие роста

Бактерицидное действие прополиса было отмечено к *S. aureus*, при экспозиции 30 минут и *M. tuberculosis* – 1 час. Спорообразующий микроорганизм (*B. cereus*) оставался устойчивым в течение 8 часов, а при 24 часовой экспозиции, рост бактерии отсутствовал. Наиболее устойчивыми к прополису были культуры *E. coli*, *S. enterica*, *P. vulgaris* и *P. aeruginosa*, которые погибали в течение 8-и часов. В контрольных пробах, из тех же культур с парафином, отмечался рост тест-микробов. Таким образом, проведенные опыты свидетельствуют, что бактерицидность прополиса более выражена по отношению к грамположительным микроорганизмам.

Следовательно, для подтверждения предыдущего опыта по установлению чувствительности грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов к прополису, был проведен следующий опыт. Для этого тест-микробы засеянные на МПБ с различной концентрацией прополиса инкубировали при 37°C в течение 24 часов и 7 суток *M. tuberculosis*. Результаты этих исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Бактерицидное действие прополиса в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов

Тест-микробы	Количество прополиса в мг, экстрагированное в 100 мл среды, задерживающее рост микробов
Грамположительные	
<i>S. aureus</i>	100
<i>B. cereus</i>	5000
<i>M. tuberculosis</i>	500
Грамотрицательные	
<i>E. coli</i>	5000
<i>S. enterica</i>	2500
<i>P. vulgaris</i>	5000
<i>P. aeruginosa</i>	5000

Из представленных данных, следует, что высокая чувствительность к прополису проявили *S. aureus* и *M. tuberculosis*. *B. cereus* был более устойчив, его инактивацию наблюдали в концентрации прополиса 5000 мг в течение 24 часов. Грамотрицательные микроорганизмы показали низкую чувствительность к прополису: *E. coli* – 5000 мг; *S. enterica* – 2500 мг; *P. vulgaris* и *P. aeruginosa* – 5000 мг, соответственно. Эти исследования демонстрируют избирательное действие прополиса на различные группы микроорганизмов. Для выяснения бактерицидного действия прополиса при применении различных экстрактов, как ацетон, спирт, вода и бензин были проведены следующие опыты. Результаты исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Бактерицидность экстрактов прополиса

Тест-микробы	Количество прополиса в мг, экстрагированные в 100 мл экстракта			
	ацетон	спирт	вода	бензин
<i>S. aureus</i>	100	250	500	350
<i>M. tuberculosis</i>	250	350	500	500
<i>E. coli</i>	350	5000	8000	6000
<i>S. enterica</i>	250	250	6000	5000
<i>P. vulgaris</i>	350	500	8000	6000
<i>B. cereus</i>	350	5000	8000	6000
<i>P. aeruginosa</i>	250	500	7000	6000

В результате этих опытов установлено высокая активность экстрактных вытяжек прополиса, сделанных ацетоном и спиртом по отношению тест-микробам. Споровая культура при их действии погибает в течение 24 часов. Тогда как бензиновая и водяная вытяжки бактерицидностью обладали слабо.

Следующий опыт был посвящен сравнительному изучению прополиса, освобожденного от воска и воска, освобожденного от прополиса. Для этого нативный прополис измельчали в стеклянной колбе и обеспечивали плавление с погружением в водяную баню (80-85°C). После того как воск растопился, полученную консистенцию протирали через сетку с мелкими ячейками. Полученный таким образом воск и прополис без воска испытывали на бактерицидность, внесением тест-микробов. Так отделенный воск от прополиса обладал высокой бактерицидной активностью, чем прополис, отделенный от воска. Согласно литературным источникам, бактерицидность воска, отделенного от прополиса, можно объяснить сохранением в нем бальзамических веществ [10, 11, 12].

Продолжая ретроспективный анализ бактерицидности прополиса, провели сравнительные исследования его, собранного из различных регионов. Предполагая, что активные вещества прополиса, собранные из различных растений, могут отличаться по бактерицидности. Пробы прополиса, хранившиеся в музее, доставлены из близлежащих регионов Поволжья и Краснодарского края.

В результате было установлено, что прополис, собранный из регионов Поволжья, бактерицидностью не отличались, все пробы в одинаковой степени обладали антимикробными свойствами. Лишь с той разницей, что отдельные образцы, доставленные из Краснодарского края, были более активны. Антимикробные свойства проявлялись в меньших концентрациях и экспозицией прополиса на тест-микробы.

Зависимость бактерицидности прополиса от сезона года и собранного на одной пасеке, был посвящен следующий опыт. Так было установлено, что прополис, собранный в июне, был активнее, чем собранный в сентябре. Однако, антимикробные свойства, каждого сбора прополиса присутствовали, т.е. антимикробная активность прополиса не зависело от времени сбора прополиса.

На современном этапе производства лекарственных препаратов, одним из проблем может быть приобретение микробиотами устойчивости к препаратам, как к антибиотикам. Исходя из этого положения, мы провели серии опытов по выявлению этого явления. Для этого тест-микробы периодически пересеивали на питательные среды, содержащими различные концентрации прополиса. В результате было совершено 22 пассажа на питательные среды. Эти исследования убедительно показали отсутствия привыкания тест-микробов к прополису. Чувствительность грамположительных и грамотрицательных бактерий не изменялся, как и первоначально эти группы микроорганизмов стабильно реагировали на прополис.

Заключение. Ретроспективный анализ результатов изучения прополиса, свидетельствует об антимикробной стабильности его. Нативный прополис имеет широкий спектр антимикробного эффекта. Наиболее бактерицидные свойства прополиса выражены к грамположительным микроорганизмам, как *S. aureus*. Грамотрицательные микроорганизмы менее чувствительны.

Образцы прополиса, собранные из различных регионов, не отличались антимикробной активностью. В той или иной степени, все они бактерицидны в зависимости от концентрации прополиса. Так же установлено срок хранения прополиса, как сырья для изготовления лекарственных средств. Прополис сохранял антимикробные свойства в течение более 10 лет, срок наблюдения. Таким образом, можно предположить, что эфирные масла и флавоноидные соединения, сохранившиеся в пропо-

лисе, обладают антимикробной активностью по отношению грамположительным и менее грамотрицательным микроорганизмам и могут служить критерием для стандартизации лекарственных препаратов, изготавливаемых из прополиса.

Список источников

1. Bankova V., Popova M., Trusheva B. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization // *Journal of Ethnopharmacology*. - 2021. - Vol. 278. - P. 114280. - DOI: 10.1016/j.jep.2021.114280.
2. Кивалкина В. П. Бактерицидные свойства прополиса // *Пчеловодство*. - 1948. - № 10. - С. 50–51.
3. Кивалкина В. П., Барсков А. А. Лекарственные формы // *Пчеловодство*. - 1991. - № 11. - С. 36–37.
4. Прополис, его антимикробные, иммуностимулирующие и лечебные свойства : монография / Р. Г. Госманов, А. К. Галиуллин, А. Х. Волков [и др.]. - Казань : Отечество, 2014. - 235 с.
5. ГОСТ 31772-2012. Прополис. Антимикробная активность: национальный стандарт Российской Федерации. - Введ. 2014-01-01. - М. : Стандартинформ, 2013. - 12 с.
6. Прополис, его антимикробные, иммуностимулирующие и лечебные свойства : монография / Р. Г. Госманов, А. К. Галиуллин, А. А. Барсков [и др.]. - 3-е изд. - Санкт-Петербург : Лань, 2023. - 267 с.
7. Барсков А. А., Кивалкина В. П., Талан В. А. Разделение прополиса на фракции и изучение их антимикробной активности // *Фитонциды : материалы VII Совещания по проблеме фитонцидов*, 25–27 июня 1973 г., Киев. - Киев, 1975. - С. 265–268.
8. Rana A., Malik A., Sobti R. C. Anti-bacterial properties of propolis: a comprehensive review // *Current Microbiology*. - 2025. - Vol. 82. - P. 45. - DOI: 10.1007/s00284-025-04456-y.
9. Veiga R. S., De Mendonça S., Mendes P. B. [et al.] Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC // *Journal of Applied Microbiology*. - 2017. - Vol. 122, № 4. - P. 911–920. - DOI: 10.1111/jam.13400.
10. Simone-Finstrom M., Spivak M. Colony-level immunity benefits and behavioral mechanisms of resin collection in honey bees // *Journal of Insect Behavior*. - 2023. - Vol. 36, № 2. - P. 89–104. - URL: <https://hdl.handle.net/11299/100921> (дата обращения: 22.03.2026).
11. Bobiş O. Plants: sources of diversity in propolis properties // *Plants*. - 2022. - Vol. 11, № 17. - Art. 1958. - DOI: 10.3390/plants11172298.
12. Recent advances in the chemical composition and biological activities of propolis / O. Belmehdi, N. El Meniyi, A. Bouyahya [et al.] // *Food Reviews International*. - 2023. - Vol. 39, № 5. - P. 4895–4928. - DOI: 10.1080/87559129.2022.2089164.

References

1. Bankova V., Popova M., Trusheva B. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization // *Journal of Ethnopharmacology*. - 2021. - Vol. 278. - P. 114280. - DOI: 10.1016/j.jep.2021.114280.
2. Kivalkina V. P. Bactericidal properties of propolis // *Pchelovodstvo [Beekeeping]*. - 1948. - № 10. - P. 50–51. - [in Russian].
3. Kivalkina V. P., Barskov A. A. Medicinal forms // *Pchelovodstvo [Beekeeping]*. - 1991. - № 11. - P. 36–37. - [in Russian].
4. Propolis, its antimicrobial, immunostimulating and therapeutic properties : monograph / R. G. Gosmanov, A. K. Galiullin, A. Kh. Volkov [et al.]. - Kazan' : Otechestvo, 2014. - 235 p. - [in Russian].
5. GOST 31772-2012. Propolis. Antimicrobial activity: national standard of the Russian Federation. - Introduced 2014-01-01. - Moscow : Standartinform, 2013. - 12 p. - [in Russian].
6. Propolis, its antimicrobial, immunostimulating and therapeutic properties : monograph / R. G. Gosmanov, A. K. Galiullin, A. A. Barskov [et al.]. - 3rd ed. - Saint Petersburg : Lan', 2023. - 267 p. - [in Russian].
7. Barskov A. A., Kivalkina V. P., Talan V. A. Fractionation of propolis and study of their antimicrobial activity // *Fitontsidy [Phytoncides] : proceedings of the VII Meeting on the problem of phytoncides*, June 25–27, 1973, Kyiv. - Kyiv, 1975. - P. 265–268. - [in Russian].
8. Rana A., Malik A., Sobti R. C. Anti-bacterial properties of propolis: a comprehensive review // *Current Microbiology*. - 2025. - Vol. 82. - P. 45. - DOI: 10.1007/s00284-025-04456-y.
9. Veiga R. S., De Mendonça S., Mendes P. B. [et al.] Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC // *Journal of Applied Microbiology*. - 2017. - Vol. 122, № 4. - P. 911–920. - DOI: 10.1111/jam.13400.

10. Simone-Finstrom M., Spivak M. Colony-level immunity benefits and behavioral mechanisms of resin collection in honey bees // *Journal of Insect Behavior*. - 2023. - Vol. 36, № 2. - P. 89–104. - URL: <https://hdl.handle.net/11299/100921> (date of access: 22.03.2026).
11. Bobiş O. Plants: sources of diversity in propolis properties // *Plants*. - 2022. - Vol. 11, № 17. - Art. 1958. - DOI: 10.3390/plants11172298.
12. Recent advances in the chemical composition and biological activities of propolis / O. Belmehdi, N. El Meniy, A. Bouyahya [et al.] // *Food Reviews International*. - 2023. - Vol. 39, № 5. - P. 4895–4928. - DOI: 10.1080/87559129.2022.2089164.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 26.01.2026;

© Галиуллин А. К., Волков Р. А., Магдеева Э. А., Семёнова С. А., Красовская Ю. В., Шаяева А. Ю.
2026

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 68 – 74
The Veterinarian. 2026; (3): 68 – 74

Научная статья

УДК 619:636.2:578.821.2

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_68

ВИДОСПЕЦИФИЧНАЯ ПРАЙМЕРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ ПЦР-РВ

Константин Анатольевич Осянин, кандидат биологических наук, *kostja-2003@yandex.ru*

Мария Евгеньевна Горбунова, кандидат биологических наук, *maria.metax@bk.ru*

Айнур Ильнурович Яруллин, кандидат биологических наук, *abii@mail.ru*

Екатерина Алексеевна Додонова, *katya.dodonova.80@mail.ru*

Рафкат Искандарович Шангараев, кандидат ветеринарных наук, *rafkat.shangaraev@mail.ru*

Гайша Рамилевна Сальманова, *aisha--mila@mail.ru*

Константин Валерьевич Усольцев, кандидат ветеринарных наук, *ukv3@mail.ru*

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Константин Анатольевич Осянин.

Аннотация. Основу оздоровительных мероприятий и профилактики животных от нодулярного дерматита составляет своевременная диагностика, которая основана на применении серологических и молекулярно-генетических подходов. В связи с тем, что для вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота (ВНД КРС) характерна относительно высокая антигенная изменчивость, а также отмечаются перекрестные реакции специфических антител с клеточными белками серологические методы зачастую дают ложноположительные результаты. В связи с вышеизложенным более перспективным методом для выявления ВНД КРС является ПЦР-диагностика, которая имеет следующие преимущества: высокая чувствительность и специфичность, оперативность, выявления возбудителя на начальных стадиях инфекции. Целью настоящей работы являлась разработка олигонуклеотидных праймеров для индикации ВНД КРС методом ПЦР в режиме реального времени. При выборе консервативного участка ДНК ВНД КРС проанализировали 20 нуклеотидных последовательностей референсных штаммов патогена, депонированных в базе данных GenBank. По результатам множественного выравнивания данных последовательностей определен маркерный локус размером 100 пар нуклеотидов (п.н.), расположенный в области белка LSDV132 от 120201 до 120300 нуклеотидов (обозначение относительно GB ID: OP688129.1). В пределах указанного выше участка разработана комбинация олигонуклеотидных праймеров – FLSD, RLSD и флуоресцентно-меченный зонд PLSD. Для контроля амплификации маркерного локуса гена белка LSDV132 сконструирован положительный контрольный образец, который представляет собой плазмидный вектор, содержащий синтезированную олигонуклеотидную последовательность, строго соответствующую искомой. При проведении ПЦР-РВ с ПКО наблюдали ожидаемый рост сигнала флуоресценции каналу CY5, величина порогового цикла C_t не более 15. На основании полученных данных можно констатировать о возможности использования разработанных в настоящем исследовании олигонуклеотидов в качестве специфических компонентов при разработке тест-системы для индикации ДНК ВНД КРС.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, нодулярный дерматит, нуклеотидная последовательность, ген, диагностика, праймеры, полимеразная цепная реакция в реальном времени

Для цитирования: Осянин К. А., Горбунова М. Е., Яруллин А. И., Додонова Е. А., Шангараев Р. И., Сальманова Г. Р., Усольцев К. В. Видоспецифичная праймерная система для индикации возбудителя нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом ПЦР-РВ // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 68 – 74. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_68

SPECIES-SPECIFIC PRIMING SYSTEM FOR INDICATION OF THE CAUSE OF LUMPY DERMATITIS IN CATTLE BY THE RT-PCR METHOD

Konstantin A. Osyenin, candidate of biological sciences, *kostja-2003@yandex.ru*
 Maria E. Gorbunova, candidate of biological sciences, *maria.metax@bk.ru*
 Ainur I. Yarullin, candidate of biological sciences, *abii@mail.ru*
 Ekaterina A. Dodonova, *katya.dodonova.80@mail.ru*
 Rafkat I. Shangaraev, candidate of veterinary sciences, *rafkat.shangaraev@mail.ru*
 Gaisha R. Salmanova, *aisha--mila@mail.ru*
 Konstantin V. Usoltsev, candidate of veterinary sciences, *ukv3@mail.ru*

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Konstantin Anatolyevich Osyenin.

Abstract. The basis of health-improving measures and animal prevention of nodular dermatitis is timely diagnostics, which is based on the use of serological and molecular-genetic approaches. Due to the fact that the bovine nodular dermatitis virus (LSDV) is characterized by relatively high antigenic variability, and cross-reactions of specific antibodies with cellular proteins are noted, serological methods often give false-positive results. In view of the above, a more promising method for the detection of LSDV is PCR diagnostics, which has the following advantages: high sensitivity and specificity, efficiency, and detection of the pathogen in the initial stages of infection. The aim of this work was to develop oligonucleotide primers for the detection of LSDV in cattle by real-time PCR. When choosing a conservative section of the DNA of LSDV in cattle, 20 nucleotide sequences of reference strains of the pathogen deposited in the GenBank database were analyzed. Based on the results of multiple sequence alignment, a marker locus of 100 nucleotide pairs (bp) was identified in the LSDV132 protein region from 120201 to 120300 nucleotides (designated as GB ID: OP688129.1). Within the above-mentioned area, a combination of oligonucleotide primers – FLSD, RLSD and a fluorescent-labeled probe PLSD has been developed. To control the amplification of the marker locus of the LSDV132 protein gene, a positive control sample has been constructed, which is a plasmid vector containing a synthesized oligonucleotide sequence strictly corresponding to the one sought. When performing PCR-RT with PCO, the expected increase in the fluorescence signal was observed in the CY5 channel, with a threshold cycle Ct of no more than 15. Based on these findings, it is possible to use the oligonucleotides developed in this study as specific components in the development of test system for the detection of LSDV DNA.

Keywords: cattle, nodular dermatitis, nucleotide sequence, gene, diagnostics, primers, real-time polymerase chain reaction

Введение. Нодулярный дерматит (НД) представляет собой высококонтагиозное вирусное заболевание крупного рогатого скота, которое клинически проявляется лихорадкой, образованием узелков (нодул) на коже, слизистых оболочках, увеличением регионарных лимфатических узлов, поражением пищеварительного и респираторного трактов [1]. Экономический ущерб от данной инфекции складывается снижением продуктивности животных, абортными, бесплодием взрослого поголовья, снижением качества кожаного сырья [2].

Эпизоотическая ситуация по НД в мире оценивается как напряженная. На сегодняшний день НД включен в перечень болезней, случаи которых подлежат регистрации в Всемирной организации по охране здоровья животных (ВООЗЖ). Неблагополучными по данной инфекции являются государства Африки, Ближнего Востока, Закавказья, Казахстан и некоторые страны Европы (Греция). В Российской Федерации (РФ) последний случай НД был зарегистрирован в 2024 г. в Республике Хакасия.

Основу оздоровительных мероприятий для профилактики НД составляет систематическая и своевременная диагностика, которая основана на применении серологических (реакция нейтрализации, иммуноферментный анализ) и молекулярно-генетических (полимеразная цепная реакция – ПЦР) методов. Стоит отметить, что серологические методы зачастую дают ложноположительные результаты. Так как для вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота (ВНД КРС) характерна относительно высокая антигенная изменчивость, также часто отмечаются перекрестные реакции специфических антител с клеточными белками других вирусов. ПЦР-диагностика НД имеет следующие преимущества: прямая индикация ДНК возбудителя, высокая чувствительность и специфичность, оперативность, индикация возбудителя на начальных стадиях инфекции [3].

Возбудителем заболевания является ДНК-содержащий вирус, который относится к роду *Capripoxvirus* и семейству *Poxviridae*. Геном ВНД КРС имеет длину 151036 пар нуклеотидов (п.н.) (GenBank ID PP979138.1), содержание гуанин-цитозиновых нуклеотидов составляет 0,26 %. Гены распределены равномерно по всему геному, число белок-кодирующих последовательностей равно 1113. В геномной ДНК идентифицировано 22 вида tandemных повторов, которые отличаются между собой длиной, числом повторов в локусе, процентному совпадению последовательностей и нуклеотидному составу. Наибольшее число tandemных повторов имеют длину от 10 до 30 п.н. В tandemных повторах в нуклеотидном составе преобладали тиминовые основания. Более длинные tandemные повторы могут быть необходимы для стабильности генома, в то время как более короткие обеспечивают функциональную гибкость. Протеомным анализом установлено, что 156 идентифицированных белков оказались уникальными только для данного возбудителя. Из 156 белков 112 - растворимые, 44 – мембранные. Так же геном ВНД КРС имеет гомологию с вирусами оспы овец, коз, которая составляет более 90 % [4]. Таким образом анализ генома изучаемого возбудителя представит возможность выбрать наиболее специфичные и устойчивые к мутациям генетические локусы для дизайна олигонуклеотидных праймеров. Разными исследователями были предложены следующие генетические маркеры для ПЦР-диагностики ВНД КРС: гены *P32* [Stram], *ORF074* [5], *VP39* [6], *ORF010*, *ORF068* [7], *EEV* (extracellular enveloped virions, ORF126) [8].

Целью настоящей работы являлось сконструировать олигонуклеотидные праймеры для индикации возбудителя нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы. Объекты исследования – нуклеотидные последовательности изолятов ВНД КРС (LSDV), вирусов оспы овец (SPPV), оспы коз (GTPV), оспы кроликов (RPXV), оспы оленей (RDPV), оспы лошадей (HSPV), оспы свиней (SWPV), оспы обезьян (MPXV), верблюжьей оспы (CMLV), коровьей оспы (CPV), птичьей оспы (FWPV), Orf-вирус депонированные в базе данных GenBank. Сравнительный анализ геномов проводили, используя онлайн-инструменты программы BLAST. Множественное выравнивание нуклеиновых последовательностей ВНД КРС осуществляли в онлайн программе NCBI MSA Viewer 1.26.0. Конструирование праймеров и положительного контрольного образца (ПКО) выполняли с помощью программы Vector NTI 9.1., в соответствии с общими принципами, которые ранее описывали для изучения других инфекций [9, 10]. Разработанные олигонуклеотиды и ПКО синтезировали в ЗАО «Евроген» (Москва).

Постановку ПЦР-РВ проводили на амплификаторе CFX96 с использованием реагентов производства ЗАО «Евроген» (Россия).

Результаты исследований и их обсуждение. Для разработки любого ПЦР-протокола в том числе и для индикации ВНД КРС необходимы знания о нуклеотидных последовательностях изучаемого возбудителя, что позволит сконструировать олигонуклеотидные затравки, которые обеспечат высокую чувствительность и специфичность реакции [11]. Есть данные, что представители семейства *Poxviridae* имеют консервативную организацию в центральной области генома, а гены данной области кодируют очень схожие ферменты синтеза РНК и ДНК, процессинга белка, сборки вириона, а также структурные белки, однако гены концевых участков сильно отличаются у разных родов [12]. Процентная идентичность геномов различных представителей семейства *Poxviridae* с изолятом ВНД КРС (GenBank ID OP688129.1) представлена в таблице 1.

Как видно из таблицы 1 наиболее сложной задачей можно считать подбор праймерной системы для выявления ДНК ВНД КРС., поскольку данный патоген имеет нуклеотидную последовательность схожую с последовательностями вирусов оспы овец и коз, идентичность которых достигает 97,33 и 97,88 % соответственно.

С целью разработки праймеров для идентификации ВНД КРС при выборе консервативного участка ДНК было проанализировано 20 нуклеотидных последовательностей референсных штаммов патогена, депонированных в базе данных GenBank под следующими номерами: PQ673867.1, OP688129.1, OR393175.1, OR983147.1, OR134842.1, OR134832.1, PV066181.1, AF409137.1, PX222718.1, OR644283.1, KY829023.1, OP688128.1, MT134042.1, MN9958838.1, PV835012.1, ON738361.1, MH893760.2, PV066182.1, OK318001.1, MW656253.1.

По результатам множественного выравнивания был определен маркерный локус размером 100 пар нуклеотидов (п.н.), расположенный в области белка LSDV132 от 120201 до 120300 нуклеотидов (обозначение относительно GB ID: OP688129.1 Lumpy skin disease virus isolate V395.1, complete genome), который имел наименьшее количество единичных полиформизмов. На сегодняшний день основные функции белка LSDV132 мало изучены, однако известно, что данный белок может отвечать за иммуномодуляцию апоптоза у хозяина [5].

В пределах указанного выше локуса разработана комбинация олигонуклеотидных праймеров – FLSD, RLSD и флуоресцентно-меченный зонд PLSD (рисунок 1, таблица 2).

Таблица 1 – Процентная идентичность геномов различных представителей семейства *Poxviridae* с изолятом ВНД КРС (GenBank ID OP688129.1)

Возбудитель	Род	Название изолята	GenBank ID	Идентичность, %
Вирус нодулярного дерматита крупного рогатого скота (LSDV)	<i>Capripoxvirus</i>	Lumpy skin disease virus isolate V395.1, complete genome	OP688129.1	-
Вирус оспы овец (SPPV)	<i>Capripoxvirus</i>	Sheeppox virus isolate SP3-Nur, complete genome	PV167793.1	97,88
Вирус оспы коз (GTPV)	<i>Capripoxvirus</i>	Goatpox virus isolate GP5-Indora, complete genome	PV167794.1	97,33
Вирус оспы кроликов (RPXV)	<i>Orthopoxvirus</i>	Rabbitpox virus strain RPU soluble interferon-alpha/beta receptor gene, complete cds	AY315834.1	88,89
Вирус оспы оленей (RDPV)	<i>Cervidpoxvirus</i>	Deerpox virus W-848-83, complete genome	AY689436.1	74,04
Вирус оспы лошадей (HSPV)	<i>Orthopoxvirus</i>	Horsepox virus isolate MNR-76, complete genome	DQ792504.1	73,45
Вирус оспы свиней (SWPV)	<i>Suipoxvirus</i>	Swinepox virus strain SWPV-NVSL, complete genome	MZ682626.1	72,91
Вирус оспы обезьян (MPXV)	<i>Orthopoxvirus</i>	Monkeypox virus, complete genome	NC_003310.1	68,75
Вирус верблюжьей оспы (CMLV)	<i>Orthopoxvirus</i>	Camelpox virus strain Negev2016, complete genome	MK910851.1	68,49
Вирус коровьей оспы (CPV)	<i>Orthopoxvirus</i>	Cowpox virus strain GRI-90, complete genome	X94355.2	68,43
Вирус птичьей оспы (FWPV)	<i>Avipoxvirus</i>	Fowlpox virus isolate 282E4, complete genome	MG702259.1	67,59
Orf-вирус	<i>Parapoxvirus</i>	Orf virus strain NZ2, complete genome	DQ184476	63,30

Рисунок 1 – Сравнение нуклеотидных последовательностей маркерного локуса белка LSDV132 различных изолятов ВНД

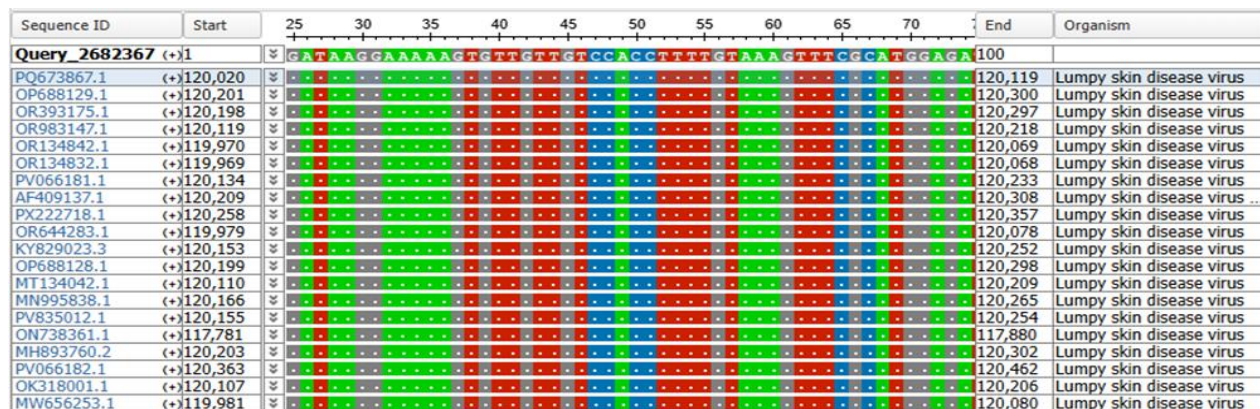


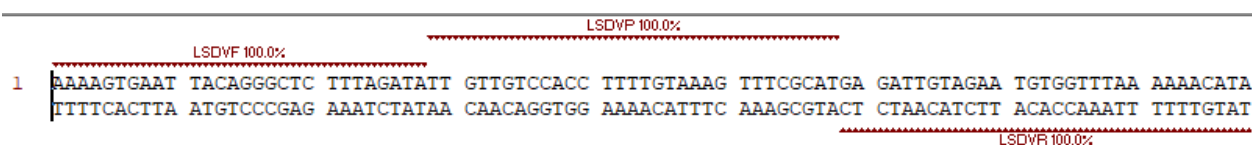
Таблица 2 – Нуклеотидная последовательность сконструированных праймеров и зонда для ПЦР

Праймер/зонд	Последовательность (5'-3')	Температура отжига
FLSD	aaaagtgaattacagggtctttagata	54,1
RLSD	tatgttttctaaccacattctacaatctc	54,3
PLSD	Cy5-ttgtgtccacctttgtaaagtttcgcac-RTQ2	

Температуры отжига праймеров (Tms), формирование олигонуклеотидных димеров и самокомплементарность были оценены при помощи модуля Oligo Analysis программы Vector NTI. Как видно из таблицы 2 температура отжига праймеров составила 54°C ($\pm 0,3^\circ\text{C}$). Разработанные праймеры не образовывали димеров, вторичных структур и полиндром. К тому же с помощью онлайн утилиты BLASTn установлено, что праймеры FLSD, RLSD характеризовались 100 % гомологией к большинству депонированных в базе данных GenBank нуклеотидным последовательностям гена белка LSDV132 различных изолятов ВНД КРС.

Для контроля амплификации маркерного локуса гена белка LSDV132 был сконструирован положительный контрольный образец (ПКО), который представляет собой синтезированную олигонуклеотидную последовательность, строго соответствующей искомой (рисунок 2). ПКО позволяет удостовериться в работоспособности и сохранности компонентов реакционной смеси, необходимых для нормального прохождения ПЦР.

Рисунок 2 – Нуклеотидная последовательность сконструированной вставки ПКО



Представленная на рисунке 2 нуклеотидная последовательность была синтезирована и клонирована в вектор pET-28a («Евроген» (г. Москва). В результате конструирования длина вектора, содержащего маркерную последовательность для выявления ВНД КРС составила 5158 п.н.

После синтеза олигонуклеотидных затравок и ПКО провели эксперименты с применением ПКО для разработки и оптимизации протокола ПЦР-РВ индикации ВНД КРС. На основании полученных результатов была составлена программа амплификации: 95 °C - 5 мин, один цикл: 40 циклов чередованием 95°C - 10 с и 54°C - 30 с (учет флуоресцентного сигнала по каналу CY5). Также был установлен оптимальный состав реакционной смеси (на одну реакцию): 1,5 мкл – 10 x ПЦР – буфер, 1.5 мкл – dNTP, 1.5 мкл – MgCl₂, прямой и обратный праймеры, олигонуклеотидный зонд (10 pM) – по 0,5 мкл каждого, 0,5 мкл – Taq полимераза, 5 мкл – ДНК-матрицы, ddH₂O (до 15 мкл)

При проведении ПЦР-РВ с ПКО наблюдали ожидаемый рост сигнала флуоресценции каналу CY5 величина порогового цикла Ct не более 15. Таким образом, разработанные олигонуклеотиды после апробации на целевой ДНК-матрице можно будет использовать как специфические компоненты при разработке тест-системы для индикации ДНК ВНД КРС.

Заключение. При определении идентичности генома ВНД КРС с геномами различных представителей семейства *Poxviridae* установлено, что данный патоген имеет нуклеотидную последовательность схожую с последовательностями вирусов оспы овец и коз, идентичность которых достигает 97,33 и 97,88 % соответственно. Разница в последовательностях выражалась в единичных заменах, распределенных равномерно по всей длине целевой последовательности ДНК вирусов. При выборе консервативного участка ДНК ВНД КРС проанализировали 20 нуклеотидных последовательностей референсных штаммов патогена депонированных в базе данных GenBank. По результатам множественного выравнивания данных последовательностей определен маркерный локус размером 100 пар нуклеотидов (п.н.), расположенный в области белка LSDV132 от 120201 до 120300 нуклеотидов (обозначение относительно GB ID: OP688129.1 Lumpy skin disease virus isolate V395.1, complete genome). В пределах указанного выше участка разработана комбинация олигонуклеотидных праймеров – FLSD, RLSD и флуоресцентно-меченный зонд PLSD. Для контроля амплификации маркерного локуса гена белка LSDV132 сконструирован положительный контрольный образец, который представляет

собой синтезированную олигонуклеотидную последовательность, строго соответствующей искомой. При проведении ПЦР-РВ с ПКО наблюдали ожидаемый рост сигнала флуоресценции каналу CY5, величина порогового цикла C_t не более 15. На основании полученных данных можно констатировать о возможности использования разработанных в настоящем исследовании олигонуклеотидных праймеров и зонда в качестве специфических компонентов при разработке тест-системы для индикации ДНК ВНД.

Список источников

1. Бурков, П. В. Вакцинопрофилактика нодулярного дерматита у коров черно-пестрой породы и повышение ее эффективности с использованием трансфер-фактора / П. В. Бурков, П. Н. Щербаков, М. Б. Ребезов // *Аграрная наука*. – 2022. – № 4. – С. 11-15. doi 10.32634/0869-8155-2022-358-4-11-15.
2. Effect of using frozen-thawed bovine semen contaminated with lumpy skin disease virus on in vitro embryo production / C.H. Annandale, M.P. Smuts, K. Ebersohn [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2019. – Vol. 66(4). – P. 1539-1547. doi:10.1111/tbed.13179.
3. Султанкулова К.Т., Зайцев В.Л. Вирус оспы верблюдов: биологические свойства, структура генома и диагностика. Алматы, 2017. 154 с.
4. In-silico characterization of LSDV132 protein divulged its BCL-2-like nature / M. F. Sarwar, Q. U. A. Waseem, M. F. Awan [et al.] // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 11(10). P. 27657.
5. Evaluation of different diagnostic methods for diagnosis of Lumpy skin disease in cows / W.S. Awad, A.K. Ibrahim, K. Mahran, K.M. Fararh [et al.] // *Trop. Anim. Health. Prod.* – 2010. – Vol. 42(4). – P. 777-83. doi: 10.1007/s11250-009-9486-5.
6. Validation of a diagnostic tool for the diagnosis of lumpy skin disease / J.J. Mwanandota, M. Macharia, C.M. Ngeleja, R.S. Sallu [et al.] // *Vet. Dermatol.* – 2018. – Vol. 29(6). – P. 532-e178. doi: 10.1111/vde.12690.
7. Recent advances in techniques used in the diagnosis of lumpy skin disease: a review / B.A. Bhat, F.M. Alqahtani, M. Alhomrani, S. Adil // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2025. – Vol. 37(6). – P. 845-853. doi: 10.1177/10406387251373081.
8. Разработка ПЦР в режиме реального времени для выявления полевых изолятов вируса заразного узелкового дерматита в пробах от крупного рогатого скота / Я. Е. Пестова, Е. Е. Артюхова, Е. Е. Кострова [и др.] // *Сельскохозяйственная биология*. – 2018. – Т. 53, № 2. – С. 422-429. doi 10.15389/agrobiology.2018.2.422rus.
9. Подбор генетических маркеров для ПЦР-РВ индикации возбудителя бабезиоза крупного рогатого скота / Р. И. Шангараев, К. В. Усольцев, М. Е. Горбунова [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2026. – № 1. – С. 87-93. doi: 10.33632/1998-698X_2026_1_87.
10. Разработка олигонуклеотидных праймеров для идентификации вируса инфекционной анемии лососевых / К. А. Осянин, Е. А. Громова, Е. А. Додонова [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2025. – № 4. – С. 81-85. doi: 10.33632/1998-698X_2025_4_81.
11. Разработка способа индикации патогенных лептоспир методом гнездовой полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / К. В. Усольцев, Р. И. Шангараев, Е. В. Панкова [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2025. – № 3. – С. 84-90. doi 10.33632/1998-698X_2025_3_84
12. Филогенетический анализ генома вируса оспы верблюдов, штамма "М-96" [Казахстан]. Султанкулова К.Т., Строчков В.М., Тайлакова Э.Т., Червякова О.В., Сандыбаев Н.Т., Щедрова А.В., Сансызбай А.Р., Зайцев В.Л. // *Вестник науки Казах. агротехн. ун-та им. С. Сейфуллина*. -2012.-N 1.-С. 12-19.

References

1. Burkov, P. V. Vaccination of nodular dermatitis in black-and-white cows and increasing its effectiveness using a transfer factor / P. V. Burkov, P. N. Shcherbakov, and M. B. Rebezov // *Agrarian Science*. – 2022. – No. 4. – P. 11-15. doi 10.32634/0869-8155-2022-358-4-11-15.
2. Effect of using frozen-thawed bovine semen contaminated with lumpy skin disease virus on in vitro embryo production / C.H. Annandale, M.P. Smuts, K. Ebersohn [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2019. – Vol. 66(4). – P. 1539-1547. doi:10.1111/tbed.13179.
3. Sultankulova K.T., Zaitsev V.L. Camel Pox Virus: Biological Properties, Genome Structure, and Diagnostics. Almaty, 2017. 154 p.

4. In-silico characterization of LSDV132 protein divulged its BCL-2-like nature / M. F. Sarwar, Q. U. A. Waseem, M. F. Awan [et al.] // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 11(10). P. 27657.
5. Evaluation of different diagnostic methods for diagnosis of Lumpy skin disease in cows / W.S. Awad, A.K. Ibrahim, K. Mahran, K.M. Fararh [et al.] // *Trop. Anim. Health. Prod.* – 2010. – Vol. 42(4). – P. 777-83. doi: 10.1007/s11250-009-9486-5.
6. Validation of a diagnostic tool for the diagnosis of lumpy skin disease / J.J. Mwanandota, M. Macharia, C.M. Ngeleja, R.S. Sallu [et al.] // *Vet. Dermatol.* – 2018. – Vol. 29(6). – P. 532-e178. doi: 10.1111/vde.12690.
7. Recent advances in techniques used in the diagnosis of lumpy skin disease: a review / B.A. Bhat, F.M. Alqahtani, M. Alhomrani, S. Adil // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2025. – Vol. 37(6). – P. 845-853. doi: 10.1177/10406387251373081.
8. Development of real-time PCR for detection of field isolates of contagious nodular dermatitis virus in samples from cattle / Ya. E. Pestova, E. E. Artyukhova, E. E. Kostrova [et al.] // *Agricultural Biology*. – 2018. – Vol. 53, No. 2. – P. 422-429. doi 10.15389/agrobiology.2018.2.422rus.
9. Search for genetic markers for PCR-RV indication of the babesiosis agent in cattle / R. I. Shangaraev, K. V. Usoltsev, M. E. Gorbunova [et al.] // *The Veterinarian*. – 2026. – No. 1. – P. 87-93. doi: 10.33632/1998-698X_2026_1_87.
10. Development of oligonucleotide primers for identification of the infectious salmon anemia / K. A. Osyannin, E. A. Gromova, E. A. Dodonova [et al.] // *The Veterinarian*. – 2025. – No. 4. – P. 81-85. doi: 10.33632/1998-698X_2025_4_81.
11. Development of a method for the indication of pathogenic leptospire by nested polymerase chain reaction in real time / K. V. Usoltsev, R. I. Shangaraev, E. V. Pankova [et al.] // *The Veterinarian*. – 2025. – No. 3. – P. 84-90. doi 10.33632/1998-698X_2025_3_84/
12. Phylogenetic analysis of the genome of camel pox virus, strain "M-96" [Kazakhstan]. Sultankulova K.T., Stochkov V.M., Tailakova E.T., Chervyakova O.V., Sandybaev N.T., Shchedrova A.V., Sansyzbai A.R., Zaitsev V.L. // *Bulletin of Kazakh Science. agrotechnology. S. Seifullin University*.-2012.-N 1.-P. 12-19.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 20.04.2026;

© Осянин К. А., Горбунова М. Е., Яруллин А. И., Додонova Е. А., Шангараев Р. И., Сальманова Г. Р., Усольцев К. В. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 75 – 81
The Veterinarian. 2026; (3): 75 – 81

Научная статья

УДК 577.2:578.828.6

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_75

РАЗРАБОТКА СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА НА ОСНОВЕ ИММУНОГЕННЫХ ЭПИТОПОВ АНТИГЕНА GP38 ДЛЯ ИНДИКАЦИИ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ВИРУСА АРТРИТА-ЭНЦЕФАЛИТА КОЗ

Гайша Рамилевна Сальманова, *aisha--mila@mail.ru*

Наиль Ильдарович Хаммадов, кандидат биологических наук, *nikhammadov@gmail.com*

Рафкат Искандарович Шангараев, кандидат ветеринарных наук, *rafkat.shangaraev@mail.ru*

Екатерина Алексеевна Додонова, *katya.dodonova.80@mail.ru*

Алина Ильфатовна Хамидуллина, *ha.ilfatovna@gmail.com*

Константин Валерьевич Усольцев, кандидат ветеринарных наук, *ukv3@mail.ru*

Мария Евгеньевна Горбунова, кандидат биологических наук, *maria.metax@bk.ru*

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Гайша Рамилевна Сальманова.

Аннотация. В настоящее время одним из наиболее эффективных способов борьбы с вирусом артрита-энцефалита коз (ВАЭК) является своевременное выявление заболевания и ликвидация всего поголовья животных в неблагополучных и подозреваемых в неблагополучии хозяйствах. Для выявления ВАЭК используются различные методы, в частности полимеразную цепную реакцию (ПЦР) для обнаружения генома возбудителя и серологические тесты для выявления специфических антител. Настоящее исследование посвящено созданию синтетического пептида, предназначенного для серологического обнаружения антител к ВАЭК. BLAST-анализ показал, что наибольшую перспективность для серологической диагностики продемонстрировал гликопротеин gp38, участвующий в формировании вирулентности и иммуногенных свойств вируса. Конструирование синтетического пептида CAEV_{per} с аминокислотной последовательностью «KHLKHLKDVLEATYAMVQHVAKEAITDRIMLYQE» осуществляли на основе иммунодоминантных эпитопов gp38 ВАЭК — dvleatyamvqhvak (IEDB ID 91218) и eaitdrimlyqe (IEDB ID 91222). Полученный пептид с молекулярной массой 4023,68 g/mol характеризовался оптимальными физико-химическими характеристиками, включая высокую растворимость в воде, нулевую изоэлектрическую точку при pH=7,78, коэффициентом экстинкции — 2560 M⁻¹cm⁻¹. При применении разработанного синтетического олигопептида в качестве антигена для иммуноферментного анализа (ИФА) установлена его оптимальная концентрация для иммобилизации планшета, которая составила 50 нг/мл. Вычислением наименьшего титра специфических антител к ВАЭК в пробах кровяной сыворотки коз, определённого как соотношение 1:1600, доказана высокая диагностическая чувствительность разрабатываемого способа ИФА. Посредством исследования 35 образцов сыворотки крови коз определена высокая специфичность анализа равная 100%. Таким образом, сконструированный синтетический пептид, созданный на основе иммуногенных эпитопов gp38, характеризовался высокой чувствительностью, специфичностью и может быть использован для разработки эффективных серологических подходов к диагностике ВАЭК.

Ключевые слова: мелкий рогатый скот, вирус артрита-энцефалита коз, эпитоп, иммуноферментный анализ, синтетический пептид, бионформационный анализ

Для цитирования: Сальманова Г. Р., Хаммадов Н. И., Шангараев Р. И., Додонова Е. А., Хаммидуллина, А. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е. Разработка синтетического пептида на основе иммуногенных эпитопов антигена GP38 для индикации антител против вируса артрита-энцефалита коз // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 75 – 81. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_75

DEVELOPMENT OF A SYNTHETIC PEPTIDE BASED ON IMMUNOGENIC EPITOPES OF THE GP38 ANTIGEN FOR DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST CAPRINE ARTHRITIS- ENCEPHALITIS VIRUS

Gaisha R. Salmanova, *aisha--mila@mail.ru*

Nail I. Khammadoov, candidate of biological sciences, *nkhammadoov@mail.ru*

Rafkat I. Shangaraev, candidate of veterinary sciences, *rafkat.shangaraev@mail.ru*

Ekaterina A. Dodonova, *katya.dodonova.80@mail.ru*

Alina I. Khamidullina, *ha.ilfatovna@gmail.com*

Konstantin V. Usoltsev, candidate of veterinary sciences, *ukv3@mail.ru*

Maria E. Gorbunova, candidate of biological sciences, *maria.metax@bk.ru*

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Gaisha Ramilevna Salmanova.

Abstract. At present, one of the most effective ways to combat the goat arthritis-encephalitis virus (GAEV) is the timely detection of the disease and the elimination of the entire herd in farms that are affected or suspected to be affected. Various methods are used to detect GAEV, in particular polymerase chain reaction (PCR) to identify the pathogen's genome and serological tests to detect specific antibodies. This study is devoted to the creation of a synthetic peptide intended for the serological detection of antibodies against GAEV. According to the results of BLAST analysis, the glycoprotein gp38, which is involved in the formation of the virus's virulence and immunogenic properties, showed the greatest promise for serological diagnosis. The construction of the synthetic peptide CAEVpep with the amino acid sequence "KHLKHLKDVLEATYAMVQHVAKEAITDRIMLYQE" was carried out based on the immunodominant epitopes of gp38 CAEV — dvleatyamvqhvak (IEDB ID 91218) and eaitdrimlyqe (IEDB ID 91222). The obtained peptide with a molecular weight of 4023.68 g/mol was characterized by optimal physicochemical properties, including high solubility in water, a zero isoelectric point at pH=7.78, and an extinction coefficient of $2560 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. When using the developed synthetic oligopeptide as an antigen for enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), its optimal concentration for immobilization of the plate was determined to be 50 ng/ml. By calculating the lowest titer of specific antibodies to CAEV in goat blood serum samples, which was determined as a ratio of 1:1600, the high diagnostic sensitivity of the developed ELISA method was proven. A study of 35 goat serum samples revealed a high specificity of 100%. Thus, the constructed synthetic peptide, created based on the immunogenic epitopes of gp38, was characterized by high sensitivity and specificity and can be used for the development of effective serological approaches for the diagnosis of CAEV.

Keywords: small ruminants, caprine arthritis- encephalitis virus, epitope, enzyme- linked immunosorbent assay, synthetic peptide, bioinformatic analysis

Введение. Артрит-энцефалит коз (АЭК), также известный как синдром артрита-энцефалита коз, представляет собой хроническое инфекционное заболевание, вызываемое лентивирусом из подсемейства *Lentivirinae* семейства *Retroviridae* [1]. Эта патология поражает преимущественно домашних коз, однако также зарегистрированы случаи инфицирования овец и крупного рогатого скота, что указывает на зоонозный потенциал данного вируса [2]. Этиология заболевания характеризуется длительным латентным периодом, который может длиться несколько месяцев или даже лет, после чего наступает проявление симптомов, включающих патологические изменения в молочной железе, суставах, дыхательной системе и центральной нервной системе [3].

На сегодняшний день, несмотря на значительные усилия в области исследований, специфических профилактических мер для АЭК не разработано. Единственным эффективным методом контроля и предотвращения распространения заболевания остается ранняя диагностика и эвтаназия инфицированных животных в неблагополучных хозяйствах [4]. Также существует альтернативный подход, направленный на снижение риска инфицирования новорожденных козлят, который заключается в отлучении козлят от инфицированной матери до получения ими молозива и их изолированное содержание от основного стада с последующим скармливанием пастеризованного молока. Данный метод позволяет минимизировать риск вертикальной передачи вируса и снизить вероятность инфицирования новорожденных, что является важным компонентом в комплексной стратегии управления заболеванием [5].

В нашей стране диагноз АЭК устанавливается с помощью серологических подходов, таких как реакция иммунной диффузии в геле (РИД) и иммуноферментного анализа (ИФА) и посредством полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Клинические данные могут лишь подозревать данную болезнь и почти невозможно определить коз со скрытым течением [6]. Современные серологические методы диагностики вируса артрита-энцефалита коз (ВАЭК) сталкиваются с рядом существенных ограничений, снижающих их эффективность. Использование цельных вирусных антигенов или их неочищенных фракций приводит к перекрёстным реакциям с антителами к родственным лентивирусам мелких жвачных, что искажает результаты скрининга [1]. Кроме того, вариабельность антигенного состава между штаммами ВАЭК и низкая экспрессия иммуногенных белков на ранних стадиях инфекции негативно влияют на чувствительность методов. Данные факторы затрудняют своевременное выявление инфицированных животных и проведение адекватных противоэпизоотических мероприятий [7].

Разработка стандартизированного серологического способа, основанного на иммунодоминантных эпитопах поверхностного гликопротеина gp38 ВАЭК, который отвечает за вирулентность и иммуногенность вируса, представляет наибольшую диагностическую ценность, что выражается в наибольшем количестве совпадений с белками большинства штаммов вируса ВАЭК [8]. Данный способ позволит минимизировать кросс-реактивность, повысить специфичность выявления антител и улучшить раннюю диагностику инфекции [8, 9].

Целью данной работы являлась разработка синтетического пептида на основе иммуногенных эпитопов gp38, предназначенного для серологической индикации антител против ВАЭК.

Материалы и методы. Объектами исследования служили аминокислотные последовательности белков вируса артрита-энцефалита коз (ВАЭК), а также 35 образцов сывороток крови коз с предварительно установленным статусом по наличию либо отсутствию антител к возбудителю, подтвержденным методом иммуноферментного анализа (ИФА) [10]. Поиск аминокислотных последовательностей и биоинформационный анализ эпитопов структурных белков вириона ВАЭК выполняли с использованием базы данных «Immune Epitope Database» (IEDB).

На основании аминокислотных последовательностей иммуногенных эпитопов gp38 ВАЭК — dvleatyamvqhvak (IEDB ID 91218) и eaitdrimlyqe (IEDB ID 91222) — разработан синтетический олигопептид CAEVper с установленным аминокислотным сиквенсом: N-конец «KHLKHLKDVLEATYAMVQHVAKEAITDRIMLYQE» С-конец. Специфичность олигопептида осуществляли посредством онлайн-сервиса BLASTp интернет-ресурса NCBI. Синтез пептида выполнен компанией Alpha Diagnostic Intl. Inc. (США) через официального импортёра ООО «Русмедторг» (Россия).

В качестве положительного и отрицательного контрольных образцов использовали сыворотки крови коз, для которых ранее методом ИФА было подтверждено наличие либо отсутствие антител к вирусу артрита-энцефалита коз [5]. Дополнительно образцы крови этих животных исследовали методом ПЦР на присутствие провирусной ДНК ВАЭК [1]. Для выявления иммунных комплексов применяли коммерческий антивидовой иммунопероксидазный конъюгат моноклональных антител к иммуноглобулинам G козы, меченный пероксидазой хрена («Sigma Aldrich», США). Иммуноферментный анализ выполняли с использованием планшетов производства ВНИИ Медполимер (Россия).

Сенсибилизацию планшетов проводили раствором синтетического пептида в концентрации 50 нг/мл, приготовленного на карбонат-бикарбонатном буфере (pH 7,3) согласно методике, описанной ранее [11]. Результаты считали положительными при соотношении оптической плотности (ОП) исследуемого образца к ОП отрицательного контроля $\geq 2,4$. Значения в диапазоне от 2,2 до 2,4 рассценивали как сомнительные, а при коэффициенте менее 2,2 результат считали отрицательным. Относительную чувствительность разрабатываемого способа ИФА рассчитывали по формуле: $a / (a + b) \times 100\%$. Статистическую обработку результатов проводили в программе Microsoft Excel.

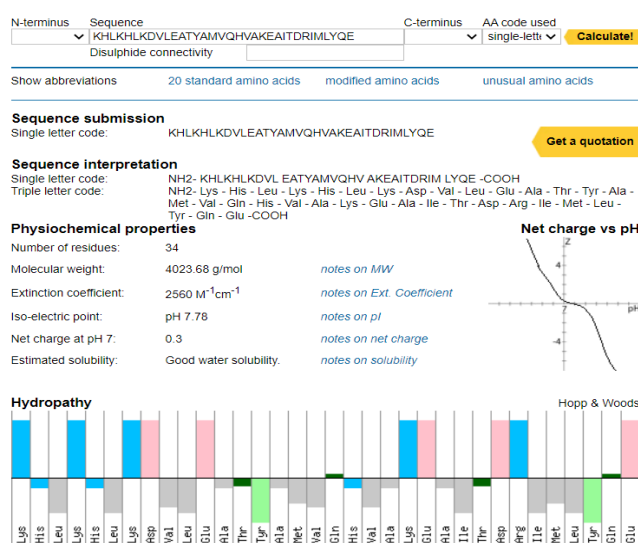
Результаты исследований и их обсуждение. Результат BLAST-анализа продуктов трансляции белков ВАЭК позволил выявить изоляты с аналогичной аминокислотной последовательностью кодируемых геном *CaVgp3* (85), геном *CaVgp4* (98) геном *pol* (99), геном *gag* (99), кодируемых геном *env* (99), геном «*envelope polyprotein, locus tag – CaVgp5*» (27). Аминокислотные последовательности вируса характеризовались минимальным полиморфизмом, и большинство белков вируса, при условии подтверждения их иммуногенности, можно использовать для дизайна синтетического антигена для выявления специфичных антител против ВАЭК. Кроме того, исходя из выполненного BLAST-анализа установлено что наибольшим потенциалом для серологической индикации обладает гликопротеин gp38 (вирусный гликозилированный белок, формирующийся в результате экспрессии гена *env*).

Согласно данным базы иммуногенных эпитопов антиген gp38 содержит 24 иммуногенных эпитопа: qeldcwwhyhqcits (IEDB ID 50636), ctwqqwerelqgyd (IEDB ID 7244), dvleatyamvqhvak (IEDB ID 91218), eaitdrimlyqe (IEDB ID 91222), aktriinrrkrels (IEDB ID 2308), dmpqsyiqnqekyk (IEDB ID 9392), hqqillqkyqvkv (IEDB ID 24602), iempenyaktriin (IEDB ID 25897), kvraytygviempenyaktriinrk (IEDB ID 34181), kvraytygvvdmpqsyiqnqekyk (IEDB ID 34182), kyqvkvraytygv (IEDB ID 34585), raytygviempeny (IEDB ID 53255), rkrrelshtrkr (IEDB ID 55631), rvraytygvidlpqsyekinlkrk (IEDB ID 56388), rvraytygviempknyekvslnrk (IEDB ID 56389), ctwqqwerglqgyd (IEDB ID 91172), edytisldpygfpiknvsgvpvtcvtkfakw (IEDB ID 91229), efakwgcpplgaydpdpeieymnvsqevvkev (IEDB ID 91233), kesaamtqlaeqarripevweslkdvdwsgwfwlkyipivvgllg (IEDB ID 91560), pipvgaieipesmkylrgaksqyggikdkngelklpltl (IEDB ID 91791), vcqplvqiyrstptyrvtvimetravagenqdfgdgleesdns (IEDB ID 92102), empenyaktriinrk (IEDB ID 103144), kvraytygvempnsyqekdrkrd (IEDB ID 109456) и rvraytygvidmpknyektnlnrk (IEDB ID 109886). Относительно указанных иммуногенных эпитопов определён только В-клеточный иммунный ответ.

Детальная серологическая характеристика иммуногенных эпитопов, с обозначением результата реакции, вида реагирующего животного и вид анализа позволили идентифицировать наиболее серологически-активные иммуногенные эпитопы, актуальные именно в отношении целевого животного (козы). Так, для дальнейшей работы были отобраны два иммуногенных эпитопа антигена gp38 вируса артрита-энцефалита коз: dvleatyamvqhvak (IEDB ID 91218) и eaitdrimlyqe (IEDB ID 91222) объединены в единый фрагмент с аминокислотной последовательностью «DVLEATYAMVQHVAKAEITDRIMLYQE». Данную аминокислотную последовательность для определения её физических характеристик рассчитали на пептидном калькуляторе (<https://pepcalc.com/protein-calculator.php>).

Установлено, что анализируемая последовательность разрабатываемого пептида, обозначенного нами как CAEV_{пер} характеризовалась хорошей растворимостью в воде, но имела отрицательный электрический заряд (-2,9) при pH=7, соответственно изоэлектрическая точка в данном случае возникает при pH=4.16. Нарушенное электрическое равновесие для синтетического антигена может сказаться на общем балансе реакции (нарушении буферности среды), что, в свою очередь, может негативно сказаться на реакции в целом. Для улучшения физико-химических свойств модифицирован олигопептид CAEV_{пер} посредством введения в структуру гидрофильных и положительно заряженных аминокислотных остатков — лизина (K), гистидина (H) и лейцина (L). После выполненной модификации олигопептид CAEV_{пер} стал обладать следующей аминокислотной последовательностью: N-конец KHLKHLKDVLEATYAMVQHVAKAEITDRIMLYQE C-конец. Анализ физико-химических параметров показал, что изоэлектрическая точка модифицированного пептида составила pH 7,78, при нейтральных значениях pH суммарный заряд молекулы был равен 0 ед. Молекулярная масса пептида достигала 4023,68 g/mol, а коэффициент экстинкции составил 2560 M⁻¹cm⁻¹. Результаты пептидной калькуляции модифицированного варианта CAEV_{пер} представлены на рисунке 1.

Рисунок 1 – Пептидная калькуляция модифицированного пептида CAEV_{пер}



После синтеза пептида CAEV_{пер} был проведён комплекс исследований, направленных на оптимизацию условий постановки ИФА. В ходе работы определяли наиболее эффективную концентрацию

цию антигена для сенсibilизации планшета, минимальный титр антител к возбудителю, а также оценивали диагностическую чувствительность разработанной тест-системы.

Для подбора оптимальной концентрации пептида CAEV_{пер} использовали следующие варианты разведения антигена - 25, 50 и 100 нг/мл. По результатам проведённых исследований установлено, что наилучшие показатели были достигнуты при концентрации 50 нг/мл. В данных условиях значения оптической плотности составили: для положительного контрольного образца (ПКО) — 1,987, для отрицательного контрольного образца (ОКО) — 0,412, при этом коэффициент соотношения ОП положительного и отрицательного контролей достигал 4,82 ед. Полученные данные свидетельствуют о высокой антигенной активности синтетического пептида CAEV_{пер} и подтверждают возможность его дальнейшего применения при разработке метода ИФА.

С использованием пептида CAEV_{пер}, сенсibilизированного на планшете в концентрации 50 нг/мл, было проведено определение минимального титра антител к ВАЭК. В исследовании применяли шесть предварительно охарактеризованных положительных сывороток крови коз, анализируемых в трёх повторностях. Для оценки данного показателя образцы сывороток подвергали последовательному титрованию в диапазоне разведений от 1:25 до 1:3200. Результаты проведённого анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Определение минимального титра антител к ВАЭК при использовании разрабатываемого пептида методом ИФА

Разведение	Сыворотки крови коз M ± SD	ОКО M ± SD	Коэффициент отношения значения оптической плотности образцов к ОКО
1:25	2,001±0,16	0,282±003	7,09
1:50	1,970±0,19	0,273±003	7,21
1:100	1,560±0,17	0,256±0,02	6,09
1:200	0,558±0,23	0,167±0,04	3,41
1:400	0,412±0,14	0,156±0,01	2,64
1:800	0,313±0,18	0,119±0,02	2,63
1:1600	0,299±0,13	0,118±0,01	2,53
1:3200	0,063±0,03	0,055±0,02	1,145

Экспериментально доказано, что наименьший титр антител к ВАЭК, определяемый в анализируемых сыворотках крови посредством ИФА, равен соотношению 1:1600. Показателем того, что анализируемая проба определялась как позитивная, если коэффициент отношения значений оптической плотности (ОП) исследуемого образца к ОКО равно или больше 2,4. Посредством ИФА на основе синтетического антигена CAEV_{пер}, а также коммерческой тест-системы «CAEV/MVV» IDEXX (Франция), исследовано 35 образцов козьей кровяной сыворотки. Анализированы сыворотки животных с подтверждённым диагнозом ВАЭК (n=20) и образцы от клинически здоровых коз (n=15). Для установления относительной диагностической чувствительности разработанного метода ИФА полученные данные с использованием синтетического олигопептида сравнивали с результатами коммерческого набора «CAEV/MVV» IDEXX. Итоги сравнительного анализа изложены в таблице 2.

Таблица 2 – Определение относительной диагностической чувствительности разработанного способа ИФА

Результаты набора «CAEV/MVV»	Результаты ИФА на основе CAEV _{пер}		
	Положительные	Отрицательные	Всего
Положительные образцы	20/a	0/b	20/(a+b)
Отрицательные образцы	0/c	15/d	15/(c+d)
Всего образцов	20	15	35
Примечания. a — истинно положительные результаты; b — ложноотрицательные результаты; c — ложноположительные результаты; d — истинно отрицательные результаты			

Как видно из таблицы 2, относительная чувствительность способа ИФА на основе CAEV_{пер} составила 100%.

Заключение. На основании анализа иммуногенных эпитопов белка gp38 вируса артрита-энцефалита коз разработан синтетический олигопептид CAEV_{per} с аминокислотной последовательностью KHLKHLKDVLEATYAMVQHNVAKEAITDRIMLYQE, который можно использовать для определения антител к возбудителю ВАЭК. При анализе с помощью «пептидного» калькулятора исследуемая молекула показала удовлетворительные физико-химические свойства, а именно, высокую растворимость в водной среде и изoeлектрическое состояние олигопептида при pH 7,78. Молекулярная масса синтетического пептида составила 4023,68 g/mol, а коэффициент экстинкции — 2560 М⁻¹см⁻¹. В ходе проведённых исследований установлено, что наиболее эффективной концентрацией пептида для иммобилизации планшета при постановке ИФА является 50 нг/мл. Минимальный титр антител к возбудителю, выявляемый в сыворотках крови инфицированных ВАЭК коз, составил 1:1600. При исследовании 35 образцов сывороток крови относительная чувствительность разработанного иммуноферментного анализа на основе синтетического пептида достигла 100%. Таким образом, сконструированный пептид, созданный на основе иммуногенных эпитопов gp38, обладает высокой диагностической чувствительностью и представляет перспективу для применения при разработке серологических методов диагностики ВАЭК.

Список источников

1. Современный подход к выявлению артрита-энцефалита коз / Г. Р. Сальманова, Н. И. Хаммадов, М. Е. Горбунова [и др.] // Инновационные решения актуальных вопросов биологической, токсикологической и радиационной безопасности для АПК: Сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвящённой 65-летию ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Казань, 11–12 сентября 2025 года. – Казань: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», 2025. – С. 154-157.
2. Очистка антигенов вируса лейкоза крупного рогатого скота методом ультрацентрифугирования / М. Е. Горбунова, К. В. Усольцев, Р. И. Шангараев [и др.] // Ветеринарный врач. – 2024. – № 2. – С. 43-48. – DOI 10.33632/1998-698X_2024_2_43.
3. Сидельников, Г. Д. Биологические свойства вируса артрита-энцефалита коз: специальность 16.00.03: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Сидельников Георгий Дмитриевич. – Покров, 2009. – 25 с.
4. Выявление серопозитивных по артриту-энцефалиту коз на территории субъектов Российской Федерации / В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, Н. Ю. Балыбина, И. Н. Пенькова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2022. – № 9(215). – С. 60-65. – DOI 10.53083/1996-4277-2022-215-9-60-65.
5. Дизайн и получение рекомбинантного мультиэпитопного антигена для индикации антите против вируса артрита-энцефалита коз / Н. И. Хаммадов, А. Г. Галеева, М. Е. Горбунова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 25-37. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.25.
6. Дизайн и применение синтетического пептида из иммуногенных эпитопов антигенов *Brucella abortus* для выявления антител против S-формы бруцелл / Н. И. Хаммадов, А. Г. Галеева, М. Е. Горбунова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 3. – С. 91-97. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_3_91.
7. Пенькова, И. Н. Выявление серопозитивных по артриту-энцефалиту коз животных на территории Сибирского федерального округа / И. Н. Пенькова, Н. Ю. Балыбина, В. Ю. Коптев // Аграрная наука - сельскому хозяйству: Сборник материалов XVII Международной научно-практической конференции. В 2-х книгах, Барнаул, 09–10 февраля 2022 года. Том Книга 2. – Барнаул: Алтайский государственный аграрный университет, 2022. – С. 202-203.
8. Антигенные кластеры трансмембранных и капсидных белков вируса артрита-энцефалита коз и их биоинформационный анализ / Е. С. Покровская, Э. А. Шуралев, М. Н. Мукминов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2015. – № 6. – С. 16-22.
9. Серологическая активность мультиэпитопного рекомбинантного антигена для выявления антител против вируса артрита-энцефалита коз / Г. Р. Сальманова, Н. И. Хаммадов, М. Е. Горбунова [и др.] // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2025. – Т. 14, № 1. – С. 191-196. – DOI 10.48612/sbornik-2025-1-45.
10. Initial multi-target approach shows importance of improved caprine arthritis-encephalitis virus control program in Russia for hobbyist goat farms / E. A. Shuralev, N. D. Shamaev, S. V. Petrov [et al.] // Veterinary World. – 2021. – Vol. 14, No. 7. – P. 1718-1726. – DOI 10.14202/vetworld.2021.1718-1726.

11. Применение синтетического пептида на основе иммуногенного эпитопа GP51 для серологической диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота / К. В. Усольцев, М. Е. Горбунова, Р. И. Шангараев [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – № 1. – С. 12-22. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.12

References

1. A modern approach to the detection of caprine arthritis encephalitis virus / Salmanova G. R., Khammadv N. I., Gorbunova M. E. [et al.] // Innovative solutions of current issues of biological, toxicological and radiation safety for agriculture: Collection of materials of the International scientific-practical conference dedicated to the 65th anniversary of FSBSI «FCTRBS-ARRVI»). Kazan, September 11–12, 2025. – Kazan: FSBSI «Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety» (FSBSI «FCTRBS-ARRVI»), 2025. – P. 154-157.
2. Purification of bovine leukemia virus antigens by ultracentrifugation / Gorbunova M. E., Usoltsev K. V., Shangaraev R. I. [et al.] // The Veterinarian. – 2024. – No. 2. – P. 43-48. – DOI 10.33632/1998-698X_2024_2_43.
3. Sidelnikov G.D. Biological properties of caprine arthritis-encephalitis virus: specialty 16.00.03: abstract of dissertation for the degree of candidate of veterinary sciences / Sidelnikov Georgiy Dmitrievich. – Pokrov, 2009. – 25 p.
4. Detection of seropositive for caprine arthritis-encephalitis goats on the territory of subjects of the Russian Federation / Koptev V. Yu., Shkil N. A., Balybina N. Yu., Penkova I. N. // Bulletin of Altai state agricultural university. – 2022. – No. 9(215). – P. 60-65. – DOI 10.53083/1996-4277-2022-215-9-60-65.
5. Design and production of recombinant multiepitope antigen to indicate antibodies against the virus arthritis-encephalitis of goats / Khammadv N. I., Galeeva A. G., Gorbunova M. E. [et al.] // International Journal of Veterinary Medicine. – 2025. – No. 1. – P. 25-37. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.25.
6. Design and application of a synthetic peptide from immunogenic epitopes of Brucella abortus antigens for detection of antibodies against s-form/ Khammadv N. I., Galeeva A. G., Gorbunova M. E. [et al.] // The Veterinarian. – 2025. – No. 3. – P. 91-97. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_3_91.
7. Penkova I. N. Detection of seropositive for arthritis-encephalitis goat animals in the territory of the Siberian Federal District / Penkova I. N., Balybina N. Yu., Koptev V. Yu. // Agrarian science - to agriculture: Collection of materials of the XVII International scientific-practical conference. In 2 books, Barnaul, February 09–10, 2022. Volume Book 2. – Barnaul: Altai State Agrarian University, 2022. – P. 202-203.
8. Antigenic clusters of transmembrane and capsid proteins of caprine arthritis encephalitis virus and their bioinformatic analysis / Pokrovskaya Ye. S., Shuralev E. A., Mukminov M. N. [et al.] // The Veterinarian. – 2015. – No. 6. – P. 16-22.
9. Serological activity of a multiepitope recombinant antigen for the detection of antibodies against the goat arthritis-encephalitis virus / Salmanova G. R., Khammadv N. I., Gorbunova M. E. [et al.] // Collection of scientific papers of KRCANVM. – 2025. – Vol. 14, No. 1. – P. 191-196. – DOI 10.48612/sbornik-2025-1-45.
10. Initial multi-target approach shows importance of improved caprine arthritis-encephalitis virus control program in Russia for hobbyist goat farms / E. A. Shuralev, N. D. Shamaev, S. V. Petrov [et al.] // Veterinary World. – 2021. – Vol. 14, No. 7. – P. 1718-1726. – DOI 10.14202/vetworld.2021.1718-1726.
11. The use of a synthetic peptide based on the immunogenic epitope gp51 for serological diagnosis of bovine leukemia virus / K. V. Usoltsev, M. E. Gorbunova, R. I. Shangaraev [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – No. 1. – P. 12-22. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.12

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 03.04.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 82 – 88
The Veterinarian. 2026; (3): 82 – 88

Научная статья
УДК 639.3.09:577.21
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_82

ПОДБОР ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ПЦР-ИНДИКАЦИИ *YERSINIA RUCKERI*

Алина Ильфатовна Хамидуллина, ha.ilfatovna@mail.ru
Наиль Ильдарович Хаммадов, nikhammadov@mail.ru
Рафкат Искандарович Шангараев, кандидат ветеринарных наук, rafkat.shangaraev@mail.ru
Константин Валерьевич Усольцев, кандидат ветеринарных наук, ukv3@mail.ru
Мария Евгеньевна Горбунова, кандидат биологических наук, maria.metax@bk.ru
Гайша Рамилевна Сальманова, aisha--mila@mail.ru
Разина Зиннатулловна Хамидуллина, khamidullina140178@gmail.com

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Алина Ильфатовна Хамидуллина.

Аннотация. Иерсиниоз это септическое заболевание, поражающее преимущественно представителей семейства лососевых – радужной форели, палии, кумжи, и занимающее первое место среди эпизоотий рыб. Распространению заболевания способствует высокая контагиозность возбудителя, что обуславливает необходимость разработки экспресс-методов диагностики для своевременного принятия карантинных и профилактических мер. Среди существующих лабораторных методов диагностики, наиболее быстрым и специфичным методом является полимеразная цепная реакция (ПЦР), которая заключается в выявлении ДНК возбудителя инфекционного заболевания. Изучение генома *Y. ruckeri* и анализ генов, кодирующих факторы патогенности, способствуют совершенствованию диагностики иерсиниоза. Цель данной работы – поиск специфических генетических маркеров и дизайн олигонуклеотидных праймеров, флуоресцентно-меченных зондов для ПЦР-диагностики *Y. ruckeri*. По результатам множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей выявлен консервативный участок гена *protein A* размером 127 п.н. расположенный в области от 3049877 до 3050003 п.н. и гена *glutamine synthetase* длиной 137 п.н. в позиции от 71209 до 71345 п.н. (обозначения относительно хромосомы *Y. ruckeri* штамм КММ821, GenBank ID CP071802), которые характеризовались высокой степенью гомологии среди изолятов и штаммов *Y. ruckeri*. На основании вариативности нуклеотидных последовательностей выбранных локусов изолятов *Y. ruckeri*, были сконструированы две комбинации олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченных зондов, определены основные их характеристики, а именно нуклеотидный состав, температура плавления, склонность к образованию димеров и вторичных структур, а также значения свободной энергии Гиббса. Для проверки специфичности подобранных олигонуклеотидов был проведен BLASTn-анализ данных локусов, который показал отсутствие гомологичных им гетерогенных нуклеотидных последовательностей в базе данных NCBI.

Ключевые слова: иерсиниоз, диагностика, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, праймеры, *Yersinia ruckeri*

Для цитирования: Хамидуллина А. И., Хаммадов Н. И., Шангараев Р. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е., Сальманова Г. Р., Хамидуллина Р. З. Подбор генетических маркеров для ПЦР-индикации *Yersinia ruckeri* // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 82 – 88. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_82

SELECTION OF GENETIC MARKERS FOR PCR INDICATION OF *YERSINIA RUCKERI*

Alina I. Khamidullina, ha.ilfatovna@mail.ru
Nail I. Khammadoov, candidate of biological sciences, nikhammadov@mail.ru
Rafkat I. Shangaraev, candidate of veterinary sciences, rafkat.shangaraev@mail.ru

Konstantin V. Usoltsev, candidate of veterinary sciences, ukv3@mail.ru
 Maria E. Gorbunova, candidate of biological sciences, maria.metax@bk.ru
 Gaisha R. Salmanova, aisha--mila@mail.ru
 Razina Z. Khamidullina, khamidullina140178@gmail.com

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Alina Ilfatovna Khamidullina.

Abstract. Yersiniosis is a septic disease that primarily affects salmonids—rainbow trout, char, and brown trout—and ranks first among fish epizootics. The spread of the disease is facilitated by the highly contagious nature of the pathogen, necessitating the development of rapid diagnostic methods for the timely adoption of quarantine and preventive measures. Among existing laboratory diagnostic methods, the fastest and most specific is the polymerase chain reaction (PCR), which involves detecting the DNA of the causative agent of the infectious disease. Studying the *Y. ruckeri* genome and analyzing the genes encoding pathogenicity factors contribute to improving the diagnosis of yersiniosis. The aim of this study was to identify specific genetic markers and design oligonucleotide primers and fluorescently labeled probes for PCR diagnostics of *Y. ruckeri*. Multiple nucleotide sequence alignment revealed a conserved 127-bp region of the protein A gene, located in the region from 3,049,877 to 3,050,003 bp and the glutamine synthetase gene with a length of 137 bp in the position from 71,209 to 71,345 bp (designations relative to the chromosome of *Y. ruckeri* strain KMM821, GenBank ID CP071802), which were characterized by a high degree of homology among *Y. ruckeri* isolates and strains. Based on the variability of nucleotide sequences of the selected loci of *Y. ruckeri* isolates, two combinations of oligonucleotide primers and fluorescently labeled probes were designed, their main characteristics were determined, namely, nucleotide composition, melting temperature, tendency to form dimers and secondary structures, as well as Gibbs free energy values. To test the specificity of the selected oligonucleotides, a BLASTn analysis of these loci was performed, which showed the absence of homologous heterogeneous nucleotide sequences in the NCBI database.

Keywords: yersiniosis, diagnostics, real-time polymerase chain reaction, primers, *Yersinia ruckeri*

Введение. *Yersinia ruckeri* – это бактерии, вызывающие иерсиниоз у мальков радужной форели, палии, кумжи и ленского осетра. Взрослые рыбы болеют хронически и являются бактерионосителями, выделяя возбудителей с содержимым кишечника с цикличностью каждые 40 суток [1]. Иерсиниоз занимает первое место среди эпизоотий, а причиняемый им экономический ущерб складывается из массовой гибели рыбы и порчи товарного вида продукции [2]. Развитию заболевания способствуют не только стрессы и неблагоприятные условия окружающей среды, но и дикие рыбы, служащие в качестве резервуара [3].

До начала 1980х годов *Y. ruckeri* была известна только в США и Австралии, их длительное выживание в воде способствовало распространению болезни в большинстве стран Восточной и Западной Европы, Ближнем Востоке и Китае. В России возбудитель впервые был выявлен в 2010 году у выращиваемого в прудах карпа на юге России [4]. Высокая контагиозность заболевания обуславливает необходимость разработки экспресс-методов диагностики с целью своевременного принятия карантинных и профилактических мер.

На сегодняшний день диагностику иерсиниоза осуществляют с помощью бактериологических, молекулярно-генетических и серологических исследований. Наиболее эффективным методом для индикации искомого возбудителя является полимеразная цепная реакция, позволяющая выявить ДНК патогена в исследуемом материале. Преимущества ПЦР складываются не только из скорости получения результатов и высокой чувствительности, но и специфичности за счет использования олигонуклеотидных праймеров, подобранных для выявления конкретного возбудителя [5, 6]. Геном *Y. ruckeri* в среднем содержит более 3 млн п.н., также 303 отличительных гена от других представителей рода *Yersinia*. [7].

Изучение генома возбудителя и анализ генов способствуют совершенствованию диагностики иерсиниоза. В качестве маркерных локусов для индикации возбудителей разными исследователями были использованы следующие гены-мишени: *16S RNA*, *glnA*, *gyrB*, *recA* и *Y-HSP60* [8].

Целью данной работы явился поиск специфических генетических маркеров и дизайн олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченных зондов для ПЦР-диагностики *Yersinia ruckeri*.

Материалы и методы. Объекты исследования – нуклеотидные последовательности генов *Y. ruckeri*, депонированные в базе данных NCBI (National Center of Biotechnology Information) под

следующими номерами (Gene ID NCBI): *beta-lactamase* (66879687), *osmolarity response regulator transcription factor OmpR* (66877983), *phage shock protein PspA* (66879554), *LPS O-antigen length regulator Wzz* (66878728), *valine--tRNA ligase* (66878257), *ATP-binding protein* (66877920), *porin OmpA* (66879143), *Kdo hydroxylase KdoO* (66879959), *exonuclease subunit SbcD* (66878641), *amino acid aminotransferase* (66880842), *DNA-binding transcriptional regulator KdgR* (66879666), *transcriptional regulator LeuO* (66878386), *Fe-S cluster assembly ATPase SufC* (66879605), *shikimate kinase AroK* (66877997), *methylenetetrahydrofolate reductase* (66881099), *methionine--tRNA ligase* (66879016), *plasmid mobilization protein MobA* (66881263), *protein A* (66879096), *glutamine synthetase* (25228915). Для определения специфичности нуклеотидных последовательностей кандидатного гена с указанными выше нуклеотидными последовательностями проводили BLAST-анализ.

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей кодирующих *pA* генов *Y. ruckeri* проводили среди следующих штаммов (GenBank ID): FCF 229 (FJ518764), FCF 231 (FJ518765), ATCC 29473 (FJ518766), WS 10/95 (AY333008), El-Max25 (PV404081), WS 20/94 (AY333009), WS 34/93 (AY333011), WS 25/94 (AY333010), ATCC 29473 (FJ717382), El-Beheira26 (PV404082), CIP 82.80 (KP894098). Для сравнения так же использовали нуклеотидные последовательности других видов рода *Yersinia* (GenBank ID): *Y. pestis* strain PPB (FJ518774), *Y. pestis* strain PEXU 817 (FJ518775), *Y. pseudotuberculosis* strain Yp 104 (JQ614030).

Выравнивание генов, кодирующих *glnA* проводили среди следующих штаммов (GenBank ID): NCTC 12270 (KP894095), DSM 18506 (KJ606872), NVI-8331 (MH156841), ATCC 29473 (FJ717348), FCF 229 (FJ518728), FCF 231 (FJ518729), ATCC 29473 (FJ518730), WS 25/94 (AY333066), WS 10/95 (AY333064), WS 20/94 (AY333065), WS 34/93 (AY333067). Для сравнения использовали так же нуклеотидные последовательности других видов рода *Yersinia* (GenBank ID): *Y. pestis* biovar *antiqua* (AJ270410), *Y. pestis* strain PEXU (FJ518739), *Y. pseudotuberculosis* strain ATCC 907 (KJ606870), *Y. pseudotuberculosis* strain ATCC 29833 (KC776734), *Y. pseudotuberculosis* strain CDC 542-84 (AY333068).

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей генов *Y. ruckeri* и дизайн олигонуклеотидных праймеров осуществляли с помощью программы Vector NTI 9.1 (Invitrogen Corporation, Карлсбад, США).

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе проведенного BLASTn-анализа установлено, что все потенциальные генетические маркеры соответствовали аналогичным нуклеотидным последовательностям *Y. ruckeri*, однако в большинстве случаев гомология нуклеотидной последовательности была выявлена и для гетерологичных микроорганизмов. Наиболее специфичными генетическими маркерами, в которых идентичность для штаммов и изолятов *Y. ruckeri* составила около 100% (при этом обнаружено минимальное число гетерологичных микроорганизмов с похожей нуклеотидной последовательностью), являлись гены *glutamine synthetase* (*glnA*) и *protein A* (*pA*). Для определения полиморфизма нуклеотидной последовательности *glnA* и *pA* различных штаммов *Y. ruckeri* нами было выполнено множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей этих генов. Результаты множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей генов *glnA* и *pA* представлены на рисунке 1.

Как видно из риунков 1А и 1Б при выравнивании нуклеотидных последовательностей представителей *Y. ruckeri* и гетерологичных организмов, относительно гена *pA* в локусе от 100 до 205 п.н. (обозачение относительно нуклеотидной последовательности гена *pA*) было выявлено минимальное число единичных полиморфизмов. Для гена *glnA* (рисунок 1В и 1Г) установлен высокий уровень идентичности для *Y. ruckeri* в области от 110 до 250 п.н. (обозачение относительно нуклеотидной последовательности гена *glnA*). Далее в пределах данных учатков были подобраны комбинации специфических олигонуклеотидов. Первая пара олигонуклетидов, обозначенных нами как pA F, pA R и pA F, комплементарны видоспецифичному локусу гена *protein A*; glnA F, glnA R и glnA P, соответствуют видоспецифичному участку гена *glutamine synthetase*. С учетом того, что указанные выше комбинации олигонуклеотидов будут объединены в единую мультипраймерную смесь для визуализации сигнала флуоресценции, связанного с амплификацией ДНК *Y. ruckeri* использовали каналам HEX и ROX. Предложенный способ сочетания разработанных олигонуклеотидов позволит диагностировать иерсиниоз лососевых рыб с высокой специфичностью за счет индикации двух генов. Краткая характеристика разработанных олигонуклеотидных праймеров и зондов представлены в таблице 1.

Рисунок 1 – Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей гена *pA* и *glnA*
 А – ген *pA* *Y. ruckeri* с *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, Б – ген *pA* *Y. ruckeri* различных штаммов,
 В – ген *glnA* *Y. ruckeri* с *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, Г – ген *glnA* *Y. ruckeri* различных штаммов

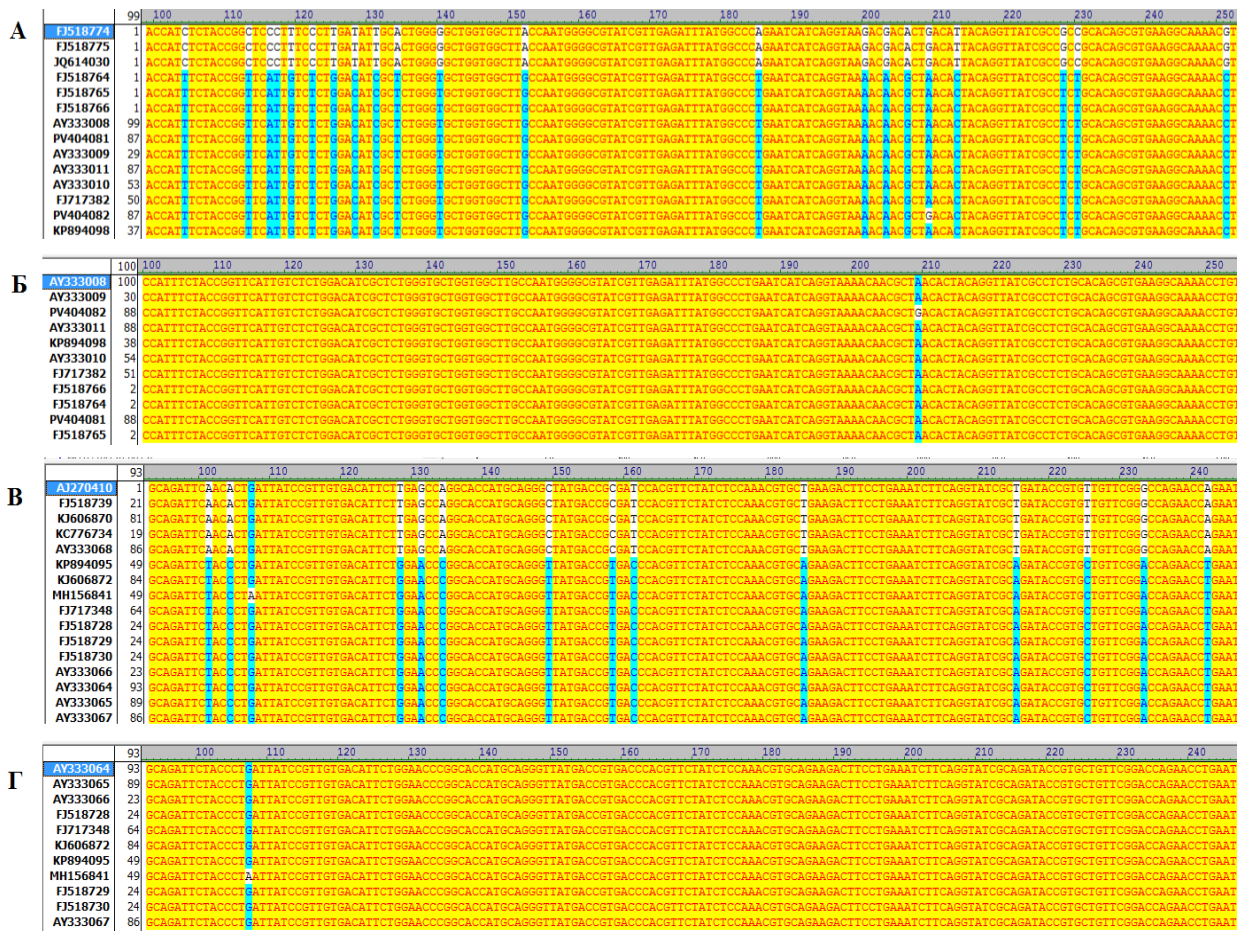


Таблица 1 – Праймеры и зонды для ПЦР индикации *Yersinia ruckeri*

Название	Определяемый патоген	Последовательность 5' → 3'	Температура плавления
<i>glnA</i> F	<i>Yersinia ruckeri</i>	ccgtggctcccacgttgct	60,4 °C
<i>glnA</i> R		cttgccggaatcaactggg	60 °C
<i>glnA</i> P		(HEX)taacaaaggccatcgctccgcagt(BHQ2)	64,2 °C
<i>pA</i> F		ccatttctaccgggtcattgtctctg	58,9 °C
<i>pA</i> R		gcgataacacctgtagtgtagcggtgttt	59,2 °C
<i>pA</i> P		(ROX)tggaagccaccagaccacaga(BHQ2)	66,3 °C

Разработанный прямой праймер на ген *protein A* (pA F) имеет длину 26 п.н., формирует один димер, свободная энергия Гиббса составляет -7,4 ккал/моль. Обратный праймер pA R характеризуется высоким уровнем внутримолекулярного взаимодействия, образует шесть димеров и две шпильки. Длина составляет 28 п.н., свободная энергия Гиббса которых не ниже 0,8 ккал /моль. Флуоресцентный зонд pA P, равен 22 п.н., образует 6 димеров и 2 шпильки, но с более широким диапазоном энергии Гиббса — от -3,2 до 0,6 ккал/моль, что предполагает наличие как умеренно стабильных, так и нестабильных вторичных структур.

Олигонуклеотидные праймеры на ген *glutamine synthetase* (*glnA* F) обладают следующими характеристиками. Прямой праймер имеет длину 19 п.н., образует три димера и одну вторичную струк-

туру со свободной энергией Гиббса -5 ккал/моль. Обратный праймер *glnA* R длиной в 20 п.н., имеет четыре димера, одну шпильку, диапазон энергии Гиббса составляет от -5,4 до 1,1 ккал/моль, то есть включает как термодинамически выгодные, так и невыгодные конформации. Флуоресцентный зонд *glnA* P, длина которого 24 п.н, образует один димер с энергией Гиббса -4,3 ккал/моль, шпилечные структуры отсутствуют.

Для обеих комбинаций праймеров и зондов димеров и вторичных структур, влияющих на эффективность амплификации не выявлено. На рисунках 2 и 3 представлены места гибридизации разработанных олигонуклеотидных праймеров и зондов в целевых нуклеотидных последовательностях *Y. ruckeri*.

Рисунок 2 – Места гибридизации прямого, обратного праймеров и флуоресцентного зонда в целевой нуклеотидной последовательности гена *protein A* *Y. ruckeri* (обозначение относительно хромосомы *Y. ruckeri* штамм KMM821)

		pA R 100.0%	
3049801	TTTTTTTCG TAGATAGGAT CAAGAGCATG CTCAGCATCG ATAAAGGCAC AGGTTTTGCC TTCACGCTGT GCAGAGGCGA TAACCTGTAG TGTAGCGTT		
	AAAAAAGCG ATATATCCTA GTTCTCGTAC GAGTCGTAGC TATTCCGTG TCCAAAACGG AAGTGCAGCA CGTCTCCGCT ATTGGACATC ACAATCGCAA		
pA R 100.0%		pA P 100.0%	
3049901	GTTTTACCTG ATGATTCAGG GCCATAAATC TCAACGATAC GCCCATTTGG CAAGCCACCA GCACCCAGAG CGATGTCCAG AGACAATGAA CCGGTAGAAA		
	CAAAATGGAC TACTAAGTCC CGGTATTAG AGTTGCTATG CGGGGTAACC GTTCGGTGGT CGTGGGTCTC GCTACAGGTC TCTGTATTCTT GGCCATCTTT		
		pA F 100.0%	
3050001	TGGTTTCAAC ATCCATTGAG CGGTCTTCGC CGAGAGCAT AATTGCGCCC TTGCCGAATT GTTTTCAAT TTGGCCAGT GCTGCTGCTA ATGCCTTTTG		
	ACCAAAGTTG TAGGTAATC GCCAGAAGCG GCTCTGCGTA TTAACGCGGG AACGGCTTAA CAAAAAGTTA AACCGGGTCA CGACGACGAT TACGGAAAAAC		
pA F 100.0%			

Рисунок 3 – Места гибридизации прямого, обратного праймеров и флуоресцентного зонда в целевой нуклеотидной последовательности гена *glutamine synthetase* *Y. Ruckeri* (обозначение относительно хромосомы *Y. ruckeri* штамм KMM821)

		glnA R 100.0%	
71201	ACGCAGATCT TGCAGCGAAT CAATGGGGG AACCGGGAAG TAACCGCCTT TTACTGCGGG ACGATGGCCT TTGTTACCAC CTTCGTATTT GGTGCTGGAG		
	TGCGTCTAGA ACGCGCCTTA GTTGACCCCTC TTGGCCCTTC ATTGGCGGAA AATGACGCC TGCTACCGGA AACAAATGGT GAAGCATAAA CCACGACCTC		
		glnA P 100.0%	
71301	TTCCATGCGC TTTCGATATC ATCGATAGCA ACGTGGGAGC CACGGATGCT GCTGCCAAT CGAATATCGT CAAACAAGAA GAATTCAGGT TCTGGTCCGA		
	AAGGTACGCG GAAGCTATAG TAGCTATCGT TGCACCTCG GTGCTACGA CGACGGTTTA GCTTATAGCA GTTTGTCTT CTTAAGTCCA AGACCAGGCT		
		glnA F 100.0%	

Длина амплифицируемых фрагментов генов *protein A* и *glutamine synthetase* *Y. ruckeri* составит 127 и 137 п.н. Искомые локусы гена *pA* расположены в области от 3049877 до 3050003 п.н., для гена *glnA* в позиции от 71209 до 71345 п.н. относительно хромосомы *Y. ruckeri* штамм KMM821 (GenBank ID CP071802). Для проверки специфичности подобранных олигонуклеотидных праймеров был проведен BLASTn-анализ данных локусов, который показал отсутствие гомологичных им гетерогенных нуклеотидных последовательностей в базе данных NCBI.

Заключение. В ходе проведенного биоинформационного анализа наиболее специфичными и консервативными генетическими маркерами с минимальным количеством однонуклеотидных полиморфизмов являлись гены *glutamine synthetase* (*glnA*) и *protein A* (*pA*). На представленные участки нуклеотидной последовательности был осуществлен дизайн олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных зондов. Результат проведенного BLASTn-анализа данных целевых фрагментов не выявил значимого сходства с какими-либо известными последовательностями других организмов. Таким образом, разработанные праймеры и флуоресцентные зонды характеризуются высокой видоспецифичностью по отношению к *Y. ruckeri*. Сконструированные генетические маркеры могут быть использованы для индикации ДНК *Y. ruckeri* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Список источников

1. Журавская, Н. П. Йерсиниозная инфекция у рыб / Н. П. Журавская, С. Н. Золотухин, Д. А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и

пути их решения : Материалы VII Международной научно-практической конференции, Ульяновск, 04–05 февраля 2016 года. Том 2016-3. – Ульяновск: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия им. П.А. Столыпина, 2016. – С. 219-223.

2. Иерсиниоз у рыб семейства лососевых / О. В. Решетникова, В. Б. Сбойчаков, А. Л. Панин, Л. А. Краева // Развитие и современные проблемы аквакультуры (Конференция "Аквакультура 2022") : Сборник научных трудов II Международной научно-практической конференции, с. Дивноморское, 26 сентября – 02 февраля 2022 года. – Ростов-на-Дону: Общество с ограниченной ответственностью "ДГТУ-ПРИНТ", 2022. – С. 109-113. – doi 10.23947/aquaculture.2022.109-113.
3. Иерсинии в патологии холоднокровных животных и человека / В. Б. Сбойчаков, О. В. Решетникова, А. Л. Панин, Л. А. Краева // XI Лужские научные чтения. Современное научное знание: теория и практика : Материалы международной научной конференции, Луга, 22 мая 2023 года. – Санкт-Петербург: Ленинградский государственный университет имени А.С. Пушкина, 2023. – С. 311-314.
4. Первое обнаружение *Yersinia ruckeri* у выращиваемого в прудах карпа *Cyprinus carpio* на юге России / А. В. Казарникова, Е. В. Шестаковская, А. В. Тришина [и др.] // Наука Юга России. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 102-114. – doi 10.23885/2500-0640-2017-13-1-102-114.
5. Усовершенствование способов постановки ПЦР-РВ для индикации патогенных лептоспир / К. В. Усольцев, Р. И. Шангараев, К. С. Хаертынов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 1. – С. 73-78. – doi 10.33632/1998-698X_2025_1_73.
6. Подбор генетических маркеров для ПЦР-РВ индикации возбудителя бабезиоза крупного рогатого скота / Р. И. Шангараев, К. В. Усольцев, М. Е. Горбунова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2026. – № 1. – С. 87-93. – doi 10.33632/1998-698X_2026_1_87.
7. Phylogenetic Relatedness and Genome Structure of *Yersinia ruckeri* Revealed by Whole Genome Sequencing and a Comparative Analysis / Abdel-Glil MY, Fischer U, Steinhagen D [et al.] / Front Microbiol – 2021 – Nov 18 – No. 12. – P. 782415. – doi: 10.3389/fmicb.2021.782415.
8. Multilocus sequence typing for studying genetic relationships among *Yersinia* species / Kotetishvili M, Kreger A, Wauters G, [et al.] // Microbiol. – 2005 – Jun. – P. 2674-2684. – doi – 10.1128/JCM.43.6.2674-2684.2005.

References

1. Zhuravskaya, N. P. *Yersinia* infection in fish / N. P. Zhuravskaya, S. N. Zolotukhin, D. A. Vasiliev // Agrarian science and education at the present stage of development: experience, problems and solutions: Proceedings of the VII International scientific and practical conference, Ulyanovsk, February 4–5 – 2016 – Vol. 2016-3. – Ulyanovsk: Ulyanovsk State Agricultural Academy named after P. A. Stolypin, 2016. – P. 219–223.
2. Yersiniosis in fish of the salmon family / O. V. Reshetnikova, V. B. Sboychakov, A. L. Panin, L. A. Kraeva // Development and modern problems of aquaculture (Conference "Aquaculture 2022"): Collection of scientific papers of the II International scientific and practical conference, Divnomorskoye village, September 26 – February 2, 2022. – Rostov-on-Don – Limited Liability Company "DSTU-PRINT", 2022. – P. 109-113. – doi 10.23947/aquaculture.2022.
3. *Yersinia* in the pathology of cold-blooded animals and humans / V. B. Sboychakov, O. V. Reshetnikova, A. L. Panin [et al.] // XI Luga Scientific Readings. Modern scientific knowledge: theory and practice: Proceedings of the international scientific conference – St. Petersburg: Leningrad State University named after A.S. Pushkin – 2023. – P. 311-314.
4. The first isolation of *Yersinia ruckeri* from carp *Cyprinus carpio* in ponds of Southern Russia / A. V. Kazarnikova, E. V. Shestakovskaya, A. V. Trishina, L. A. Kraeva // Science of the South of Russia. – 2017. – Vol. 13, No. 1. – P. 102-114. – doi 10.23885/2500-0640-2017-13-1-102-114.
5. Improvement of RT-PCR methods for indication of pathogenic leptospir / K. V. Usoltsev, R. I. Shangaraev, K. S. Khaertynov [et al.] // The Veterinarian. – 2025. – No. 1. – P. 73-78. – doi 10.33632/1998-698X_2025_1_73.
6. Search for genetic markers for PCR-RV indication of the babesiosis agent in cattle / R. I. Shangaraev, K. V. Usoltsev, M. E. Gorbunova [et al.] // The Veterinarian. – 2026. – No. 1. – P. 87-93. – doi 10.33632/1998-698X_2026_1_87.
7. Phylogenetic Relatedness and Genome Structure of *Yersinia ruckeri* Revealed by Whole Genome Sequencing and a Comparative Analysis / Abdel-Glil MY, Fischer U, Steinhagen D, [et al.] / Front Microbiol – 2021 – Nov 18 – doi: 10.3389/fmicb.2021.782415.

8. Multilocus sequence typing for studying genetic relationships among *Yersinia* species / Kotetishvili M, Kreger A, Wauters G, [et al.] // Microbiol. – 2005 – Jun. – P. 2674-2684. doi – 10.1128/JCM.43.6.2674-2684.2005.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 29.04.2026;

© Хамидуллина А. И., Хаммадов Н. И., Шангараев Р. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е., Сальманова Г. Р., Хамидуллина Р. З. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 89 – 95
The Veterinarian. 2026; (3): 89 – 95

Научная статья
УДК 619:616-092
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_89

ПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ *TRICHINELLA SPIRALIS* НА ОРГАНИЗМ НУТРИЙ

Фёдор Иванович Василевич¹, доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН,
f-vasilevich@inbox.ru

Алена Юрьевна Вишневецкая¹, *alio.selutina2012@yandex.ru*

Мария Игоревна Бурмистрова², *m.burmistrova@vetbioprom.ru*.

¹ Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Российская Федерация

² Центр ветеринарии

Автор, ответственный за переписку: Алена Юрьевна Вишневецкая.

Аннотация. Актуальность исследования обусловлена широким распространением трихинеллёза среди диких и домашних животных, при этом данные об особенностях течения заболевания у нутрий крайне ограничены. В данной статье исследование направлено на изучение патологического влияния *Trichinella spiralis* на организм нутрий и выявление ключевых биомаркеров заболевания. Целью исследования являлось комплексное изучение клинико-патологических и гематологических изменений у нутрий при экспериментальном заражении личинками *Trichinella spiralis*. Эксперимент проведён на 5 нутриях стандартной породы массой 1,5 – 2,5 кг. Заражение осуществлялось перорально в дозе 3000 личинок на особь. Проведён динамический мониторинг клинического состояния животных и комплексный анализ гематологических и биохимических показателей крови. Результаты исследования показали, что трихинеллёз вызывает значительные патологические изменения в организме нутрий. Выявлены существенные нарушения в системе кроветворения: гипогемоглобинемия, эритропения, тромбоцитопения, выраженная эозинофилия. Установлена гиперферментация аминотрансфераз и лактатдегидрогеназы, связанная с деструкцией миофибрилл. Отмечено повышение активности щелочной фосфатазы и уровня билирубина, свидетельствующее о развитии холестаза. Выявлено нарушение функции почек, подтверждённое ростом уровней креатинина и мочевины. Определено вовлечение в патологический процесс поджелудочной железы по данным активности альфа-амилазы. В ходе исследования впервые установлено течение трихинеллёза у нутрий в динамике, которое существенно отличается от известных форм заболевания у других животных. Выявлен комплекс специфических патологических изменений, включающий характерные гематологические и биохимические нарушения. Разработанная система диагностических критериев в дальнейшем позволит выявлять заболевание на ранних стадиях, что критически важно для звероводческих хозяйств. Определены точные показатели изменений крови, которые служат надёжными маркерами инвазии.

Ключевые слова: трихинеллёз, нутрии, паразитарная инвазия, экспериментальное заражение, гематологические изменения, биохимические маркеры, эозинофилия, гиперферментация

Для цитирования: Василевич Ф. И., Вишневецкая А. Ю., Бурмистрова М. И. Патологическое влияние *Trichinella spiralis* на организм нутрий // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 89 – 95. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_89

THE PATHOLOGICAL IMPACT OF *TRICHINELLA SPIRALIS* ON THE ORGANISM OF NUTRIA

Fedor I. Vasilevich¹, Doctor of veterinary sciences, Professor, RAS academician, *f-vasilevich@inbox.ru*

Alena Yu. Vishnevskaya¹, *alio.selutina2012@yandex.ru*

Maria I. Burmistrova², *m.burmistrova@vetbioprom.ru*

¹ Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation

² Veterinary Medicine Center

Corresponding author: Alena Yurievna Vishnevskaya.

Abstract. The relevance of the study is due to the widespread occurrence of trichinosis among wild and domestic animals, while data on the course of the disease in nutria are extremely limited. In this article, the research is aimed at studying the pathological effect of *Trichinella spiralis* on the body of nutrients and identifying key biomarkers of the disease. The aim of the study was a comprehensive study of clinico-pathological and hematological changes in nutria during experimental infection with *Trichinella spiralis* larvae. The experiment was carried out on 5 nutria of a standard rock weighing 1.5 – 2.5 kg. Infection was carried out orally at a dose of 3,000 larvae per individual. Dynamic monitoring of the clinical condition of the animals and a comprehensive analysis of hematological and biochemical blood parameters were carried out. The results of the study showed that trichinosis causes significant pathological changes in the body of nutrients. Significant disorders in the hematopoiesis system were revealed: hypohemoglobinemia, erythropenia, thrombocytopenia, pronounced eosinophilia. Hyperfermentation of aminotransferases and lactate dehydrogenase associated with the destruction of myofibrils has been established. An increase in alkaline phosphatase activity and bilirubin levels was noted, indicating the development of cholestasis. Impaired renal function was revealed, confirmed by an increase in creatinine and urea levels. Involvement of the pancreas in the pathological process was determined based on the activity of alpha-amylase. During the study, for the first time, the course of trichinosis in nutria was established in dynamics, which differs significantly from the known forms of the disease in other animals. A complex of specific pathological changes has been identified, including characteristic hematological and biochemical disorders. The developed system of diagnostic criteria will further make it possible to detect the disease at an early stage, which is critically important for fur farms. Precise indicators of blood changes have been determined, which serve as reliable markers of invasion.

Keywords: trichinosis, nutria, parasitic invasion, experimental infection, hematological changes, biochemical markers, eosinophilia, hyperfermentemia

Введение. Трихинеллёз является широко распространенной паразитарной инвазией в естественных биоценозах, обладающей существенной эпидемиологической и эпизоотической значимостью на глобальном и региональных уровнях. На территории Российской Федерации возбудитель данного заболевания выявлен более чем у 59 видов диких и домашних животных, что подтверждает его высокую циркуляцию в природных и антропогенных экосистемах [1,4].

Вместе с тем в современной научной литературе практически отсутствуют данные об экспериментальном моделировании трихинеллёзной инвазии у нутрий, а также о специфике клинических проявлений заболевания у данного вида грызунов. Отмеченный дефицит информации создаёт существенные пробелы в понимании патогенеза и динамики развития трихинеллёза у нутрий, что затрудняет разработку целенаправленных профилактических и диагностических мероприятий.

В связи с этим, проведение специализированных исследований по данной проблематике представляются не только актуальными, но и обладающим выраженной научной ценностью. Полученные результаты могут способствовать расширению представлений о межвидовой вариабельности течения инвазии, а также послужить основой для совершенствования ветеринарно-санитарных мер контроля [7,9].

Цель исследования – комплексно изучить клиническую картину трихинеллёза у нутрий на разных стадиях инвазии, а также провести динамический мониторинг гематологических и биохимических показателей крови. В рамках этой цели поставлены следующие задачи:

- 1) Охарактеризовать спектр клинических проявлений инвазии;
- 2) Отследить изменения основных гематологических параметров (количество эритроцитов, лейкоцитов и других клеточных элементов крови, уровень гемоглобина, СОЭ и др.);
- 3) Оценить динамику биохимических маркеров (общий белок, печёночные ферменты, показатели азотистого обмена и т.д.);
- 4) Установить корреляцию между клиническими признаками и лабораторными данными на различных этапах развития заболевания.

Материалы и методы. В эксперименте использовали пять двухмесячных нутрий (*Myocastor coypus*) стандартной породы с массой тела в диапазоне 1,5 – 2,5 кг. Животных размещали индивидуально в специализированных клетках, обеспечивающих оптимальные условия содержания: постоян-

ный доступ к свежей питьевой воде, наличие купальных ёмкостей, а также двухразовое ежедневное кормление сбалансированным рационом (комбикорм в сочетании с корнеплодами).

Моделирование трихинеллёзной инвазии осуществляли с применением нативного материала второго пассажа, полученного от предварительно инфицированных лабораторных мышей. Личинки *Trichinella spiralis* вводили перорально через шприц в дозе 3000 личинок на одну особь [3].

На протяжении всего экспериментального периода проводили ежедневный клинико-физиологический мониторинг состояния животных, включающий: оценку общего состояния и поведенческих реакций; фиксацию возможных патологических симптомов; контроль физиологических показателей (аппетит, активность, состояние шерстного покрова и т.д.).

Взятие крови для лабораторных исследований выполняли в утренние часы строго до начала кормления. Гематологический и биохимический анализы проводили по стандартизированным методикам с соблюдением всех требований преаналитического этапа. Лабораторные исследования осуществлены на базе ЛДВЦ МВА, что обеспечило высокую точность и воспроизводимость полученных результатов.

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе экспериментального заражения грызунов личинками *Trichinella spiralis* специфический симптомокомплекс, однозначно указывающий на трихинеллёз, не был зарегистрирован. Тем не менее выявлена чёткая динамика развития неспецифических клинических проявлений.

Ранние проявления (2-е сутки после заражения): диарея у 3 из 5 нутрий, продолжительностью 3 дня, повышение температуры тела до субфебрильных значений (39 °C) у всех инвазированных животных. Такие признаки на ранней стадии вероятно связаны с начальной стадией инвазии – миграцией личинок и их воздействием на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта. Эти симптомы носят транзиторный характер и купируются в течение 3 дней, что может указывать на адаптацию организма к паразитарной нагрузке.

Поздние проявления (5 – 25-е сутки после заражения) отражают системное воздействие паразита на организм хозяина: респираторные нарушения: учащенное дыхание, кашель; сердечно-сосудистые изменения: учащенное сердцебиение; перечисленные нарушения могут быть следствием токсико-аллергических реакций и развития миозита в дыхательных мышцах. Метаболические и поведенческие нарушения (анорексия, снижение потребления воды, отсутствие прироста массы тела у всех особей, прогрессирующая потеря веса у одной особи (снижение массы на 12 % от исходного уровня к 25-м суткам) указывают на нарушение обменных процессов и сильную интоксикацию. Изменения шерстного покрова – потеря блеска, ломкость волоса, признаки дегенерации волосяного покрова – служат индикатором общего нарушения трофики тканей и дефицита питательных веществ. Неврологические симптомы (у 2-х особей): эпизоды гиперкинезии, случаи агрессивного поведения, сменяющиеся общей вялостью и апатией. Данные нарушения могут быть связаны с воздействием токсинов на центральную нервную систему либо с развитием миозита в скелетной мускулатуре [2,6].

Отсутствие специфической клинической картины у нутрий при экспериментальном заражении личинками трихинелл подчёркивает необходимость использования лабораторных методов диагностики (гематологических и биохимических) для выявления достоверной картины патологического процесса. Результаты гематологических и биохимических исследований представлены в таблицах 1 и 2.

Анализ данных 1 таблицы, показывает, что инвазия вызвала значительные изменения в гематологических показателях, наиболее выраженные в период миграции личинок паразита в организме животных. Здесь мы можем выделить несколько ключевых моментов:

Изменение уровня гемоглобина. Наблюдалось прогрессирующее снижение уровня гемоглобина: на 5-е сутки после заражения – уменьшение на 8,9%, на 10-е сутки – снижение составило 17,2%, а к 25-м суткам уровень гемоглобина оставался пониженным на 16,5 % по сравнению с исходными значениями. Это может указывать на развитие анемии, вероятно, связанной с токсическим действием паразитов и нарушением эритропоэза.

Динамика тромбоцитов. Содержание тромбоцитов также продемонстрировало выраженное снижение: к 15-м суткам количество тромбоцитов уменьшилось на 25,1%, к 25-м суткам уровень тромбоцитов оставался пониженным на 18,4% относительно исходного уровня. Снижение тромбоцитов может свидетельствовать о нарушениях костного мозга, усиленном потреблении тромбоцитов в результате воспалительных процессов, повреждении эндотелия сосудов под физическим или токсическим действием трихинелл.

Таблица 1 – Гематологические показатели нутрий при экспериментальном заражении *Trichinella spiralis* (n=5)

Показатели, ед. измерения	До заражения	После заражения			
		5-е сутки	10-е сутки	15-е сутки	25-е сутки
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	5,35 $\pm$ 0,85	5,78 $\pm$ 1,15	9,15 $\pm$ 1,25	8,75 $\pm$ 1,45	7,27 $\pm$ 1,18
Нейтрофилы палочкоядерные, %	6,3 $\pm$ 0,25	4,2 $\pm$ 0,15	3,2 $\pm$ 0,35	5,2 $\pm$ 0,45	4,1 $\pm$ 0,48
Нейтрофилы сегментоядерные, %	31,1 $\pm$ 2,15	34,1 $\pm$ 1,45	25,8 $\pm$ 1,85	30,5 $\pm$ 0,78	29,7 $\pm$ 0,45
Эозинофилы, %	1,8 $\pm$ 0,45	8,2 $\pm$ 0,32	14,6 $\pm$ 0,25	15,7 $\pm$ 0,38	9,6 $\pm$ 0,35
Базофилы, %	0	0,6 $\pm$ 0,49	0,4 $\pm$ 0,49	0,2 $\pm$ 0,4	0
Моноциты, %	5,4 $\pm$ 0,12	5,2 $\pm$ 0,09	5,8 $\pm$ 0,05	5,1 $\pm$ 0,25	4,5 $\pm$ 0,15
Лимфоциты, %	55,4 $\pm$ 2,15	47,8 $\pm$ 1,22	51,6 $\pm$ 1,35	43,5 $\pm$ 1,45	52,1 $\pm$ 1,12
Гемоглобин, г/л	123,2 $\pm$ 2,85	118,5 $\pm$ 3,45	102,3 $\pm$ 5,27	107,5 $\pm$ 6,15	104,6 $\pm$ 4,25
Гематокрит, %	37,5 $\pm$ 2,25	34,3 $\pm$ 3,15	35,2 $\pm$ 4,05	30,1 $\pm$ 3,85	33,7 $\pm$ 4,25
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	362,5 $\pm$ 7,85	341,3 $\pm$ 8,15	285,2 $\pm$ 6,14	277,5 $\pm$ 5,25	287,7 $\pm$ 5,15
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	3,95 $\pm$ 0,15	40,5 $\pm$ 0,25	3,35 $\pm$ 0,45	3,25 $\pm$ 0,21	3,47 $\pm$ 0,22
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	37,7 $\pm$ 2,15	37,8 $\pm$ 1,85	33,1 $\pm$ 2,18	32,5 $\pm$ 2,05	34,7 $\pm$ 2,35

Одним из наиболее ярких изменений стал рост количества эозинофилов – характерная реакция на паразитарную инвазию. Для сравнения, до заражения уровень эозинофилов составлял 1,8 $\pm$ 0,45%, на 10-е сутки – 14,6 $\pm$ 0,25%, на 25-е сутки – 9,6 $\pm$ 0,35%. Стойкая эозинофилия подтверждает активацию иммунного ответа на присутствие паразита и сохраняется на протяжении всего эксперимента, хотя к концу наблюдения отмечается некоторое снижение.

Изменение лейкоцитарной формулы. Палочкоядерные нейтрофилы: отмечается снижение в первые дни (до 3,2% на 10-е сутки), затем частичное восстановление (5,2% на 15-е сутки). Это может указывать на перераспределение нейтрофилов в очаги воспаления. Сегментоядерные нейтрофилы: колебания в пределах 25,8 – 34,1%, что отражает динамику воспалительного процесса. Лимфоциты: снижение с 55,4% до минимума 43,5% на 15-е сутки, затем рост до 52,1% к 25-м суткам. Это свидетельствует о перераспределении лимфоцитов и возможном угнетении лимфопоэза в острой фазе инвазии. Моноциты: незначительные колебания (5,1 – 5,8%), что может отражать умеренную активацию моноцитарной системы.

Эритроцитарные показатели. Отмечена статистически недостоверная эритропения – снижение количества эритроцитов (с $3,95 \times 10^{12}/\text{л}$ до минимума $3,25 \times 10^{12}/\text{л}$ на 15-е сутки). Это согласуется с уменьшением уровня гемоглобина и может быть связано со следующими факторами: укорочением жизненного цикла эритроцитов, нарушением их образования в костном мозге, потерей крови в микроциркуляторном русле. Показатель средней концентрации гемоглобина демонстрировал колебания, снижение до 33,1 г/л на 10-е сутки и частичное восстановление к концу наблюдений – 33,7 г/л на 25-е сутки. Это указывает на нарушение насыщения эритроцитов гемоглобином, вероятно, вследствие токсического воздействия паразитов. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) была стабильно выше контрольных значений на протяжении всего эксперимента – до заражения показатель составлял 1,95 $\pm$ 1,25, максимум на 10-е и 15-е сутки 5,21 $\pm$ 1,45 и 6,18 $\pm$ 1,15 соответственно. Повышение СОЭ подтверждает наличие воспалительного процесса, вызванного инвазией трихинелл.

Экспериментальное заражение нутрий личинками *Trichinella spiralis* привело к комплексному нарушению гемопоэза, включая анемию (снижение гемоглобина и эритроцитов), тромбоцитопению, выраженную эозинофилию как специфическую реакцию на паразита, изменения лейкоцитарной формулы, отражающие динамику воспалительного процесса, повышение СОЭ, подтверждающие системное воспаление. Данные изменения свидетельствуют о значительном стрессе для организма животных и активации защитных механизмов в ответ на паразитарную инвазию [8,10].

Анализируя показатели, представленные в таблице 2, выявлен ряд значимых изменений, отражающих прогрессирование паразитарной инвазии и нарушение функций внутренних органов.

Таблица 2 – Биохимические показатели крови нутрий при экспериментальном заражении *Trichinella spiralis* (n=5)

Показатели, ед. измерения	До заражения	После заражения			
		5-е сутки	10-е сутки	15-е сутки	25-е сутки
Билирубин общий, мг/дл	1,55±0,85	1,48±1,15	3,15±1,25	4,08±1,85	4,05±1,75
АСТ, Ед./л	150,75±12,53	186,15±14,25	345,25±18,25	385,12±16,85	295,45±17,45
АЛТ, Ед./л	19,55±3,25	28,25±4,15	47,54±4,75	52,17±5,15	30,15±2,85
Глюкоза, ммоль/л	3,45±1,25	4,15±1,75	8,24±3,15	10,35±2,45	4,25±2,05
Мочевина, ммоль/л	2,85±1,15	3,05±1,75	4,65±1,25	5,15±2,05	4,05±2,15
Креатинин, ммоль/л	71,5±1,45	70,8±1,85	85,45±1,45	80,17±2,1	88,15±2,2
Общий белок, г/л	51,15±3,85	49,25±2,95	38,15±3,45	35,45±3,15	37,17±2,85
Альбумин, г/л	31,45±2,15	37,25±2,85	45,17±3,45	47,15±3,15	48,25±3,25
Щелочная фосфатаза, Ед./л	1155±45,55	2015±52,17	3025±43,25	3845±35,15	3755±30,25
ЛДГ, Ед./л	1925±43,25	2015±35,45	2150±38,25	2045±30,25	2455±31,15
Альфа-амилаза общая, Ед./л	2525±18,55	3425±25,15	4225±30,17	3958±30,17	4225±37,25

Одним из наиболее ярких проявлений стала выраженная гиперферментация аминотрансфераз. Уровень фермента АСТ продемонстрировал значительный рост – с исходных 150,75±12,53 Ед./л до 385,12±16,85 Ед./л на 15-е сутки. Это указывает на повреждение гепатоцитов и клеток миокарда, характерное для интоксикации и воспалительного процесса. Также отмечено повышение активности АЛТ – с 19,55±3,25 Ед./л до максимума 52,17±5,15 Ед./л на 15-е сутки. Рост АЛТ подтверждает поражение печени и может свидетельствовать о нарушении её детоксикационной функции.

Изменение активности ферментов. Зафиксировано постепенное увеличение активности ЛДГ – повышение на 14% на 5-е сутки, на 12,3% на 10-е утки и на 10,7% на 25-е сутки относительно исходного уровня. Это может быть связано с гипоксией тканей и усилением анаэробного гликолиза в условиях инвазии. Активность щелочной фосфатазы увеличивалась в среднем на 12 – 17% каждые 5 суток; такой рост указывает на холестаз или повреждение гепатобилиарной системы. Отмечено повышение активности альфа-амилазы в среднем на 11% каждые 5 суток. Это может свидетельствовать о нарушении функции поджелудочной железы или воспалительном процессе в желудочно-кишечном тракте.

Нарушение азотистого обмена. Динамика показателей мочевины и креатинина указывает на дисфункцию почек. Отмечен значительный рост уровня мочевины – на 5-е сутки превышение исходных значений на 170,2% (3,05±1,75 ммоль/л против 2,85±1,15 ммоль/л до заражения), на 15-е сутки – на 180,7% (5,15±2,05 ммоль/л), на 25-е сутки – на 131,1% (4,05±2,15 ммоль/л). Также отмечено повышение креатинина: исходный уровень 71,5±1,45 ммоль/л, на 10-е сутки – 85,45±1,45 ммоль/л, на 15-е – 89,45 ммоль/л. Корреляция между ростом мочевины и креатинина подтверждает нарушение выделительной функции почек.

Изменения билирубинового обмена. Уровень общего билирубина прогрессивно возрастал от исходного 1,55±0,85 мг/дл до 4,05±1,75 мг/дл на 25-е сутки. Это указывает на нарушение функции печени, возможное развитие холестаза или гепатоцеллюлярной недостаточности.

Метаболические изменения. Отмечено резкое повышение уровня глюкозы на 10-15-е сутки (8,24±3,15 ммоль/л и 10,35±2,45 ммоль/л соответственно), что может быть связано со стрессовой реакцией организма, нарушением углеводного обмена, снижением инсулинорезистентности (к 25-м суткам уровень глюкозы нормализовался – 4,25±2,05 ммоль/л). Снижение общего белка с 51,15±3,85 г/л до минимума 35,45±3,15 г/л на 15-е сутки указывает на нарушение синтетической функции печени и усиленный катаболизм. Уровень альбумина, напротив, продемонстрировал рост (до 48,25±3,25 г/л на 25-е сутки), что может быть связано с относительной сохранностью синтеза этого белка или дегидратацией.

Наличие искусственно вызванной паразитарной инвазии у нутрий привело к комплексному нарушению биохимических параметров крови, включая повреждение гепатоцитов, о чем говорит нам рост показателей АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы и креатинина; дисфункцию почек (повышение мочевины и креатинина); нарушение углеводного обмена – гипергликемия на средних сроках инвазии; снижение синтетической функции печени, на это нам указывает падение уровня общего белка; уси-

ление анаэробного гликолиза (рост ЛДГ); о возможном поражении поджелудочной железы указывает повышение альфа-амилазы. Полученные данные также свидетельствуют о системном характере патологических изменений при трихинеллёзе у нутрий [5,11].

Заключение. Проведенное исследование наглядно продемонстрировало многогранное патологическое воздействие *Trichinella spiralis* на организм нутрий. Развитие паразита провоцирует каскад нарушений, затрагивающих основные органокомплексы, что позволяет детально проследить взаимосвязь между этапами жизненного цикла паразита и клинико-лабораторными изменениями у животных.

Определены ключевые патогенетические механизмы, а именно: травматическое и токсическое воздействие мигрирующих личинок вызывает выраженные нарушения в системе кроветворения (гипогемоглобинемия, эритропения, тромбоцитопения), приводит к устойчивому повышению скорости оседания эритроцитов (СОЭ) – маркеру воспалительного процесса, провоцирует деструкцию миофибрилл, что проявляется гиперферментацией аминотрансфераз и ЛДГ, отражающей повреждение мышечной ткани. Аллергический компонент инвазии характеризуется выраженной эозинофилией – классическим индикатором паразитарного заражения. Эозинофилы нейтрализуют медиаторы тучных клеток, предотвращая развитие острых аллергических реакций (в ходе эксперимента отёк Квинке не был зафиксирован) [4].

Поражение внутренних органов. Печень – выявлен синдром холестаза, подтвержденный одновременным ростом активности щелочной фосфатазы и уровня билирубина, а также повышенная активность альфа-амилазы свидетельствует о вовлечении в патологический процесс поджелудочной железы. Нарушение фильтрационной функции почек, проявляющееся ростом уровней креатинина и мочевины, вероятно, обусловлено аутоиммунными механизмами.

Также необходимо отметить метаболические нарушения, о чем говорит нам не только гипергликемия в середине наблюдений, что отражает стрессовую реакцию и дисфункцию углеводного обмена, но и снижение уровня белка, что указывает на снижение синтетической функции печени.

Исследование позволило сформировать комплексный профиль биохимических и гематологических маркеров трихинеллёза у нутрий, включающий эозинофилию, гиперферментемию (повышение активности АСТ, АЛТ, ЛДГ, щелочной фосфатазы, альфа-амилазы), рост уровней креатинина, мочевины, билирубина, нарушения в системе кроветворения. Эти показатели могут служить основой не только для ранней диагностики трихинеллёзной инвазии, динамичного мониторинга течения заболевания, но и оценки эффективности терапевтических мероприятий.

Список источников

1. Андреев О.Н., Успенский А.В., Скворцова Ф.К. Трихинеллёз в природном биоценозе: биология возбудителя, диагностика и профилактика. М.: Сельскохозяйственные технологии, 2019. 96 с.
2. Василевич, Ф. И. Влияние экспериментальной трихинеллезной инвазии на клинические показатели крови у кроликов / Ф. И. Василевич, А. Ю. Вишневская // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения : Сборник трудов 3-й Научно-практической конференции, Москва, 28 июня 2024 года. – Москва: ООО "Издательство "Сельскохозяйственные Технологии", 2024. – С. 154-155. – EDN LBNHTM.
3. Василевич, Ф.И. Описание методики заражения личинками *Trichinella spiralis* лабораторных животных / Ф.И. Василевич, А.М. Никанорова, А.Ю. Вишневская // Материалы I Всероссийской научно-практической конференции «Современные проблемы естествознания и естественно-научного образования». – 2024. – С.199-201.
4. Василевич, Ф.И. Распределение личинок *Trichinella spiralis* в тканях и мускулатуре нутрий при экспериментальном заражении / Ф. И. Василевич, А. Ю. Вишневская, М. И. Бурмистрова // Ветеринарный врач. – 2026. – № 1. – С. 60-66.
5. Коновалова Г. В., Ковешникова Е. И. Влияние экспериментального заражения крыс и мышей личинками *Trichinella spiralis* на гематологические и биохимические показатели у хозяина на разных стадиях // Российский паразитологический журнал. 2023. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-eksperimentalnogo-zarazheniya-krys-i-myshey-lichinkami-trichinella-spiralis-na-gematologicheskie-i-biohimicheskie>.
6. Сапунов А.Я. Трихинеллёз нутрий. Рекомендации. Краснодар, 2009. С. 3 – 32.
7. Успенский А. В., Написанова Л. А. Профилактика трихинеллёза в звероводческих хозяйствах // Российский паразитологический журнал. 2021. №2.

8. Eberle JU, Voehringer D. Role of basophils in protective immunity to parasitic infections. *Semin Immunopathol.* 2016 Sep;38(5):605-13. doi: 10.1007/s00281-016-0563-3. Epub 2016 Apr 26. PMID: 27116557.
9. Gamble, H. R., Bessonov, A. S., Cuperlovic, K., Gajadhar, A. A., van Knapen, F., Noeckler, K., Schenone, H., & Zhu, X. (2000). International Commission on Trichinellosis: recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Veterinary parasitology*, 93(3-4), 393–408. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00354-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00354-x).
10. Matowicka-Karna J. (2006). Płytki krwi w chorobach pasożytniczych [The blood platelets in parasitic diseases]. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 21(123), 295–298.
11. Panasiuk, A., & Matowicka-Karna, J. (1999). Rola płytek krwi w chorobach pasożytniczych [Role of blood platelets in parasitic diseases]. *Wiadomosci parazytologiczne*, 45(3), 309–318.

References

1. Andreyanov O. N., Uspensky A. V., Skvortsova F. K. *Trichinellosis in Natural Biocenosis: Biology of the Pathogen, Diagnosis, and Prevention*. Moscow: Agricultural Technologies, 2019. 96 p.
2. Vasilevich, F. I. The effect of experimental trichinellosis infection on clinical blood parameters in rabbits / F. I. Vasilevich, A. Yu. Vishnevskaya // Actual problems of veterinary medicine, animal science, biotechnology and expertise of raw materials and products of animal origin : Proceedings of the 3rd Scientific and Practical Conference, Moscow, June 28, 2024. — Moscow : LLC “Publishing House ‘Agricultural Technologies’”, 2024. — P. 154–155. — EDN LBNHTM.
3. Vasilevich, F. I., Nikanorova, A. M., & Vishnevskaya, A. Yu. (2024). Description of the Method for Infecting Laboratory Animals with *Trichinella spiralis* Larvae. In Proceedings of the 1st All-Russian Scientific and Practical Conference “Modern Problems of Natural Science and Natural Science Education” (pp. 199–201).
4. Vasilevich, F. I. Distribution of *Trichinella spiralis* larvae in tissues and muscles of nutria under experimental infection / F. I. Vasilevich, A. Yu. Vishnevskaya, M. I. Burmistrova // The Veterinary Doctor. — 2026. — No. 1. — P. 60–66.
5. Konovalova, G. V. The effect of experimental infection of rats and mice with *Trichinella spiralis* larvae on hematological and biochemical parameters of the host at different stages / G. V. Konovalova, E. I. Koveshnikova // Russian Journal of Parasitology. — 2023. — No. 2. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-eksperimentalnogo-zarazheniya-krysa-i-myshey-lichinkami-trichinella-spiralis-na-gematologicheskie-i-biohimicheskie>.
6. Sapunov, A. Ya. (2009). Trikhinellez nutrii. Rekomendatsii [Trichinellosis of nutria. Recommendations]. Krasnodar, pp. 3–32.
7. Uspensky A. V., Napisanova L. A. Prevention of trichinellosis on fur farms. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2021; 15 (2): 107–112. (In Russ.).
8. Eberle JU, Voehringer D. Role of basophils in protective immunity to parasitic infections. *Semin Immunopathol.* 2016 Sep;38(5):605-13. doi: 10.1007/s00281-016-0563-3. Epub 2016 Apr 26. PMID: 27116557.
9. Gamble, H. R., Bessonov, A. S., Cuperlovic, K., Gajadhar, A. A., van Knapen, F., Noeckler, K., Schenone, H., & Zhu, X. (2000). International Commission on Trichinellosis: recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Veterinary parasitology*, 93(3-4), 393–408. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00354-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00354-x).
10. Matowicka-Karna J. (2006). Płytki krwi w chorobach pasożytniczych [The blood platelets in parasitic diseases]. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 21(123), 295–298.
11. Panasiuk, A., & Matowicka-Karna, J. (1999). Rola płytek krwi w chorobach pasożytniczych [Role of blood platelets in parasitic diseases]. *Wiadomosci parazytologiczne*, 45(3), 309–318.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 03.04.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 96 – 103
The Veterinarian. 2026; (3): 96 – 103

Научная статья

УДК 619

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_96

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ОРГАНИЗМА 9-МЕСЯЧНЫХ ЯИЧНЫХ КУР ПОСЛЕ ДЕРМАНИССИОЗА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА «Д-ЦИФЕНОТРИН КОМБО»

Евгения Николаевна Индюхова, кандидат биологических наук, indyuhova@vniigis.ru

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Евгения Николаевна Индюхова.

Аннотация. Эффективная борьба с красным куриным клещом при промышленном выращивании кур является актуальным вопросом современной паразитологии во всем мире. Новые препараты с высокой инсектоакарицидной активностью и доказанной безопасностью позволяют проводить деакаризацию на всех этапах технологического цикла птицеводческого хозяйства. Особый научный интерес состоит в изучении особенностей клеточно-молекулярных механизмов восстановления организма яичных кур после лечения дерманиссиоза новым комбинированным инсектоакарицидом. В птичнике промышленного сектора с дерманиссиозом отобрали пять кур-несушек кросса «СП-789», перевезли их на экспериментальную базу ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Проводили противопаразитарные обработки кур 0,005%-ной водной эмульсией препарата «Д-цифенотрин Комбо» на основе D-цифенотрина, пиперонилбутоксиды, пирипроксифена, при этом в течение эксперимента красных куриных клещей не выявлено. Осуществляли отбор проб крови у кур до деакаризации, далее через 15 и 30 суток после двукратной обработки исследуемым препаратом. До деакаризации у кур-несушек отмечена бледность гребней и сережек, незначительная потеря пера, снижение количества эритроцитов, а также уровня лейкоцитов, низкая концентрация трийодтиронина свободного, снижение активности аланинаминотрансферазы и α -амилазы в крови, высокий индекс соотношения гетерофилов к лимфоцитам, а также снижение интенсивности углеводно-энергетического обмена. На фоне лечения перечисленные показатели крови имели тенденцию к нормализации. При этом в крови экспериментальных кур при действии биологического стресс-фактора (паразитических клещей) не выявлено выраженной интенсификации процессов липопероксидации и вместе с тем снижения общей антиоксидантной активности. Длительное паразитирование красного куриного клеща у кур обуславливает слаботекущий характер восстановления показателей крови, отражающих клеточно-молекулярные механизмы саногенеза на фоне лечения, однако низкие значения некоторых изученных в эксперименте метаболитов свидетельствуют о хроническом течении стресс-реакции и об усилении катаболических процессов у птиц.

Ключевые слова: гомеостаз, саногенез, куры-несушки, пестициды, дерманиссиоз

Для цитирования: Индюхова Е. Н. Особенности клеточно-молекулярных механизмов восстановления организма 9-месячных яичных кур после дерманиссиоза при применении препарата «Д-цифенотрин комбо» // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 96 – 103. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_96

FEATURES OF CELLULAR AND MOLECULAR RECOVERY MECHANISMS IN 9-MONTH-OLD LAYING HENS AFTER DERMANYSSOSIS TREATED WITH D-CYPHENOTHRIN COMBO

Evgenia N. Indyuhova, Candidate of Biological Sciences, indyuhova@vniigis.ru

All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Evgenia Nikolaevna Indyuhova.

Abstract. Effective control of the poultry red mite in industrial chicken farming is a pressing issue in modern parasitology worldwide. New products with high insectoacaricidal activity and proven safety allow for deacarization at all stages of the poultry farming process. Of particular scientific interest is the study of cellular and molecular mechanisms of recovery in laying hens after treatment against dermanyssosis with a new combined insectoacaricide. Five SP-789 laying hens with dermanyssosis were isolated from the industrial poultry building and transported to the experimental base of the VNIIP – FSC VIEV. The hens were treated with a 0.005% aqueous emulsion of D-Cyphenothrin Combo, a product containing D-cyphenothrin, piperonyl butoxide, and pyriproxyfen. No poultry red mites were found during the experiment. Blood samples were collected from the hens before the deacarization, and then at 15 and 30 days after double treatment with the test drug. Before the deacarization, the laying hens showed pale combs and wattles, minor feather loss, decreased erythrocytes and leukocytes, low free triiodothyronine, decreased alanine aminotransferase and α -amylase activity in the blood, a high heterophile-to-lymphocyte ratio, and a decreased rate of carbohydrate-energy metabolism. Such blood parameters tended to normalize in the course of the treatment. However, no significant intensification in lipid peroxidation or decrease in overall antioxidant activity was observed in the blood of the experimental hens exposed to a biological stress factor (parasitic mites). Long-term infestation of the hens by the poultry red mite results in a slow recovery of blood cellular and molecular components during the treatment. However, low levels of some metabolites studied in the experiment indicate a chronic stress response and increased catabolic processes in their bodies.

Keywords: homeostasis, sanogenesis, laying hens, pesticides, dermanyssosis

Введение. Эффективная борьба с красным куриным клещом при промышленном выращивании кур является актуальным вопросом современной паразитологии. Длительное и нерациональное использование инсектоакарицидов, а также особенности цикла развития этих паразитических клещей привели к развитию устойчивых популяций по всему миру [1]. Проблема резистентности *Dermanyssus gallinae* к различным инсектоакарицидам отмечена в Италии, Франции, Швеции, Китае, Турции, Японии, Греции, Бразилии, Австралии и других странах [1, 2]. Поэтому поддержание эффективности пестицидов, уже имеющихся на рынке и хорошо изученных, имеет важное значение. Так, восстанавливать их эффективность против паразитических членистоногих может пиперонилбутоксид, который усиливает инсектоакарицидную активность пиретроидов в 10-20 раз [3]. Во ВНИИП – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН разработан новый комбинированный лекарственный препарат «Д-цифенотрин Комбо» в форме раствора для наружного применения на основе трех действующих веществ. Первый активный компонент, инсектоакарицид – синтетический пиретроид Д-цифенотрин, второй – его синергист - пиперонилбутоксид [4] и третий – регулятор роста, развития паразитических членистоногих, пирипроксифен.

Новые лекарственные препараты с высокой инсектоакарицидной активностью и доказанной безопасностью позволяют проводить деакаризацию на всех этапах технологического цикла птицеводческого хозяйства. Так, проведение указанных ветеринарных мероприятий особенно ценно в присутствии птиц разного возраста с эктопаразитами при их промышленном выращивании. Поэтому особый научный интерес состоит в изучении влияния эффективной концентрации заявленного препарата на организм яичных кур на фоне деакаризации против красного куриного клеща; данная концентрация выявлена в серии предшествующих экспериментов [5-7].

Известно, что основные механизмы восстановления заключаются в активизации антиоксидантной системы, повышении функциональной активности некоторых желез внутренней секреции, интенсификации центральных обменных процессов, стабилизации энергетического обмена, а также в иммуномодуляции [5]. Принимая во внимание особенности изменения некоторых физиолого-биохимических и гематологических показателей крови, возможна детализация механизмов саногенеза в организме племенных птиц. Так, изменение некоторых параметров антиоксидантного статуса, метаболизма и гематологических показателей крови у кур на фоне деакаризации отражает запуск процессов восстановления, а именно их интенсивность (скорость), качество (соответствие гомеостатическим параметрам) и характер (особенности их протекания). Результаты исследования позволят углубить понимание механизмов воздействия инвазии на здоровье организма яичных птиц, а также обоснованно спрогнозировать эффективность разработанного лечения, включая вероятность полного выздоровления, хронизации процесса, риска осложнений и летальности.

Цель работы – изучить особенности клеточно-молекулярных механизмов восстановления организма племенных кур-несушек кросса «СП-789» в возрасте 9 месяцев при дерманиссиозе на фоне двукратной противопаразитарной обработки 0,005%-ной водной эмульсией «Д-цифенотрин Комбо».

Материалы и методы. Научно-исследовательскую работу проводили в 2024 году в условиях птицефабрики и на Подольской опытно-производственной базе ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. В промышленном секторе осуществляли паразитологическое обследование закрытого птичника, в результате чего установлено паразитирование красного куриного клеща со средней степенью заклещеванности (не более 100 клещей на один погонный метр). В птичнике содержали кур яичного племенного кросса «СП-789» в возрасте 9 месяцев (15060 кур-несушек и 1800 петухов). У птиц перьевой покров сохранен, у некоторых особей, которых содержали на верхних ярусах клеточных батарей в области шеи выявлены бесперьевые участки кожи. У кур-несушек отмечена бледность гребней и сережек, у петухов данные изменения отсутствовали. В статье используется наименование экспериментальной группы кур с учетом их исходного возраста: «куры в возрасте 9 месяцев». Указанное обозначение их возраста остается неизменным в течение опыта в целях упрощения фиксации данных.

Далее пять кур-несушек с дерманиссиозом перевезли на Подольскую опытно-производственную базу, где их содержали напольно. В опыте учитывали особенности поведения кур, прием корма и воды, а также изменение состояния их перьевого покрова в динамике. Для кормления птиц использовали полнорационный комбикорм для кур-несушек ПК1, доступ к воде был без ограничений.

Проводили отбор проб крови у кур до дезакаризации, далее через 15 и 30 суток после двукратной наружной обработки 0,005%-ной водной эмульсией препарата «Д-цифенотрин Комбо». Интервал между обработками составил 7 суток. Обрабатывали кур и помещение мелкокапельно с помощью помпового опрыскивателя. В крови подсчитывали процентное соотношение различных видов лейкоцитов, определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, концентрацию гемоглобина, общего белка, альбуминов, глобулинов, креатинина, холестерина, триглицеридов, глюкозы, трийодтиронина (T_3) свободного, активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы, креатинфосфокиназы (КФК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и α -амилазы. Оценивали уровень общей антиоксидантной активности и перекисного окисления липидов в крови. Определяли соотношение гетерофилов к лимфоцитам. Осуществляли статистическую обработку цифровых данных, представляли их в следующем формате $M \pm SD$ (M - среднее значение, SD - стандартное отклонение), вычисляли t критерий для зависимых выборок, значения считали статистически значимыми (достоверными) при $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Результаты исследований и их обсуждение. В начале эксперимента у кур выявлено отсутствие перьев только у одной особи в области шеи, у остальных – перьевой покров был практически сохранен на фоне паразитирования красного куриного клеща. Через 30 суток после дезакаризации существенных изменений у них в состоянии перьевого покрова не установлено. Однако в течение опыта выявлены значимые изменения в крови кур, которые изложены в таблице.

Таблица – Гематологические и физиолого-биохимические показатели крови кур-несушек «СП-789» до обработки, через 15 и 30 суток после дезакаризации ($M \pm SD$, $n=5$)

Показатель, ед. измерения	Срок исследования	Цифровые данные ($M \pm SD$)
<i>Гематологические показатели крови</i>		
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	до дезакаризации	$3,19 \pm 0,37$
	через 15 суток после дезакаризации	$4,86 \pm 0,34^{**}$
	через 30 суток после дезакаризации	$5,04 \pm 0,30^{**}$
Гемоглобин, г/л	до дезакаризации	$117,80 \pm 6,72$
	через 15 суток после дезакаризации	$128,40 \pm 6,02$
	через 30 суток после дезакаризации	$124,60 \pm 5,68$
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	до дезакаризации	$3,82 \pm 0,66$
	через 15 суток после дезакаризации	$7,36 \pm 1,46^{**}$
	через 30 суток после дезакаризации	$7,66 \pm 1,07^{**}$

Продолжение Таблицы

Показатель, ед. измерения	Срок исследования	Цифровые данные (M ± SD)
<i>Лейкоцитарная формула, %</i>		
Эозинофилы, %	до дезакаризации	8,40 ± 1,14
	через 15 суток после дезакаризации	3,60 ± 1,14***
	через 30 суток после дезакаризации	5,60 ± 3,36
Моноциты, %	до дезакаризации	3,40 ± 1,95
	через 15 суток после дезакаризации	4,80 ± 0,84
	через 30 суток после дезакаризации	4,20 ± 0,84
Базофилы, %	до дезакаризации	0,60 ± 0,55
	через 15 суток после дезакаризации	0,40 ± 0,55
	через 30 суток после дезакаризации	0,60 ± 0,55
Лимфоциты, %	до дезакаризации	38,60 ± 3,13
	через 15 суток после дезакаризации	70,60 ± 3,21***
	через 30 суток после дезакаризации	58,40 ± 2,07***
Гетерофилы (псевдоэозинофилы), %	до дезакаризации	49,00 ± 4,47
	через 15 суток после дезакаризации	20,60 ± 4,51***
	через 30 суток после дезакаризации	31,20 ± 2,95***
<i>Физиолого-биохимические показатели</i>		
Общий белок, г/л	до дезакаризации	45,60 ± 4,51
	через 15 суток после дезакаризации	46,40 ± 2,07
	через 30 суток после дезакаризации	46,20 ± 3,03
Альбумины, г/л	до дезакаризации	19,00 ± 2,92
	через 15 суток после дезакаризации	22,40 ± 2,41
	через 30 суток после дезакаризации	22,80 ± 3,11
Глобулины, г/л	до дезакаризации	26,60 ± 2,51
	через 15 суток после дезакаризации	24,00 ± 1,73
	через 30 суток после дезакаризации	23,40 ± 2,19*
Аланинаминотрансфераза, Е/л	до дезакаризации	3,60 ± 0,55
	через 15 суток после дезакаризации	4,20 ± 1,30
	через 30 суток после дезакаризации	6,00 ± 1,00*
Аспартатаминотрансфераза, Е/л	до дезакаризации	166,40 ± 12,16
	через 15 суток после дезакаризации	186,60 ± 12,38
	через 30 суток после дезакаризации	157,40 ± 11,61
Щелочная фосфатаза, Е/л	до дезакаризации	2172,00 ± 53,70
	через 15 суток после дезакаризации	1324,20 ± 51,02***
	через 30 суток после дезакаризации	1062,60 ± 135,12***
Креатинин, мкмоль/л	до дезакаризации	28,00 ± 1,41
	через 15 суток после дезакаризации	35,20 ± 1,64***
	через 30 суток после дезакаризации	31,00 ± 3,54
Креатинфосфокиназа, Е/л	до дезакаризации	1296,60 ± 55,81
	через 15 суток после дезакаризации	1090,60 ± 256,35
	через 30 суток после дезакаризации	1055,40 ± 251,88
Холестерол, ммоль/л	до дезакаризации	2,83 ± 0,63
	через 15 суток после дезакаризации	2,94 ± 0,47
	через 30 суток после дезакаризации	2,05 ± 0,22
Триглицериды, ммоль/л	до дезакаризации	6,12 ± 3,32
	через 15 суток после дезакаризации	5,83 ± 3,16
	через 30 суток после дезакаризации	4,09 ± 0,90
Глюкоза, ммоль/л	до дезакаризации	9,54 ± 0,50
	через 15 суток после дезакаризации	9,68 ± 0,52
	через 30 суток после дезакаризации	11,50 ± 1,26*

Продолжение Таблицы

Показатель, ед. измерения	Срок исследования	Цифровые данные (M ± SD)
Лактатдегидрогеназа, Е/л	до дезакаризации	932,40 ± 65,29
	через 15 суток после дезакаризации	588,80 ± 35,39***
	через 30 суток после дезакаризации	509,00 ± 39,47***
α-Амилаза, Е/л	до дезакаризации	251,80 ± 18,16
	через 15 суток после дезакаризации	325,40 ± 23,59**
	через 30 суток после дезакаризации	428,60 ± 17,18***
Общая антиоксидантная активность, ммоль/л	до дезакаризации	1,73 ± 0,03
	через 15 суток после дезакаризации	1,70 ± 0,03
	через 30 суток после дезакаризации	1,71 ± 0,03
ПОЛ (перекисное окисление липидов), мкмоль/л	до дезакаризации	2,95 ± 0,09
	через 15 суток после дезакаризации	2,98 ± 0,13
	через 30 суток после дезакаризации	2,96 ± 0,22
<i>Гормоны-регуляторы</i>		
Т ₃ свободный, пмоль/л	до дезакаризации	5,32 ± 1,58
	через 15 суток после дезакаризации	6,54 ± 0,30
	через 30 суток после дезакаризации	9,35 ± 0,48**

Примечание: М - среднее значение, SD - стандартное отклонение, *- P<0,05; **- P<0,01; ***- P<0,001

В течение эксперимента у племенных кур достоверно изменялись некоторые гематологические показатели крови. Количество эритроцитов у кур до обработки составило $3,19 \pm 0,37 \times 10^{12}/л$, далее после дезакаризации через 15 суток количество клеток красной крови статистически значимо увеличилось в 1,5 раза (P<0,01), с сохранением этой положительной динамики и через 30 суток после двукратной обработки яичных кур. При этом изменения концентрации гемоглобина были незначительными и недостоверными, установлена лишь тенденция к увеличению концентрации гемоглобина в крови у кур через 15 суток после обработок на 9,0% и через 30 суток – на 5,8% по сравнению с цифровыми данными до дезакаризации. Возможно, описанные низкие показатели у кур до обработки обусловлены длительным паразитированием эктопаразита гематофага - красного куриного клеща. Однако в ходе восстановления у кур-несушек установлена стабилизация уровня эритроцитов до верхней границы физиологической нормы.

На фоне противопаразитарных обработок и вместе с тем восстановления здоровья кур установлено достоверное увеличение количества лейкоцитов. Так, уровень лейкоцитов в крови в течение эксперимента через 15 суток после дезакаризации статистически значимо стал выше в 1,9 раза (P<0,01), через 30 суток – в 2,0 раза (P<0,01) по сравнению с результатами до обработок. Значения данного параметра стали приближаться к нижним границам физиологической нормы для сельскохозяйственных птиц. Кроме того, выраженные изменения установлены в лейкоцитарной формуле у экспериментальных животных. До обработки у кур-несушек выявлен высокий процент эозинофилов (на верхней границе нормы), далее он снижается до 3,60 - 5,60%. Соотношение гетерофилов к лимфоцитам – это базовый лейкоцитарный индекс, который позволяет оценить наличие стрессовых состояний в организме кур [8]. После обработок процент лимфоцитов в крови кур растет, достигая физиологической нормы, а процент гетерофилов, наоборот, снижается. При этом индекс соотношения гетерофилов к лимфоцитам до обработки составил $1,28 \pm 0,22$, через 15 суток - $0,29 \pm 0,08$ (P<0,001), через 30 суток – $0,53 \pm 0,05$ (P<0,01). Через 15 и 30 суток после противопаразитарных обработок отмечено достоверное снижение этого индекса в 4,4 и 2,4 раза. Указанные изменения индекса соотношения гетерофилов к лимфоцитам свидетельствуют о выраженном развитии антистрессорных реакций в организме яичных кур 9-месячного возраста после дерманиссиоза [8]. Возможно, это связано с усилением активности иммунной и эндокринной систем, что способствует реализации саногенетических механизмов в организме кур после лечения [5].

Большую роль в активизации механизмов восстановления в организме птиц имеют тиреоидные гормоны, именно они ответственны за интенсификацию обмена веществ, стабилизацию гемопоза, стимуляцию пролиферации иммунных клеток, поддержание антиоксидантного статуса у птиц [9].

Йодсодержащие гормоны являются индукторами синтеза более 100 ферментов, большая часть которых задействована в процессах энергетического обмена, поэтому при снижении их уровня в крови кур отмечают уменьшение потребления кислорода тканями, а также замедление переработки энергетических субстратов [9]. Вышеперечисленные физиолого-биохимические процессы особенно важны для реализации компенсаторно-адаптационных процессов. На фоне деакаризации концентрация трийодтиронина свободного в крови у племенных кур через 15 суток после деакаризации составила $6,54 \pm 0,30$ пмоль/л, через 30 суток – $9,35 \pm 0,48$ пмоль/л ($P < 0,01$), при этом до обработок – $5,32 \pm 1,58$ пмоль/л. Представленные цифровые данные свидетельствуют о выраженном изменении гормональной активности щитовидной железы у кур на фоне лечения через 30 суток, что обусловлено повышением уровня исследуемого йодсодержащего гормона в 1,8 раза ($P < 0,01$) по сравнению с цифровыми данными до обработок. Реализация физиолого-биохимических свойств тиреоидных гормонов, очевидно, положительно отразилась на состоянии системы крови, интенсивности углеводно-энергетического, белкового обменов, а также на поддержании антиоксидантного статуса крови кур.

При этом в течение восстановительного периода у животных общая антиоксидантная активность крови достоверно не изменялась, вместе с тем концентрация продуктов перекисного окисления липидов не претерпевала значимых изменений. Возможно, это обусловлено относительно недлительным периодом воздействия фактора стресса на организм кур, а также тем, что у молодых особей более высокая интенсивность обменных процессов, а вместе с тем более своевременная и эффективная реализация метаболических взаимосвязей (через которые реализуются компенсаторные функции организма), нежели наблюдается в последующие периоды онтогенеза. Кроме того, данный яичный кросс отличается высокой сохранностью поголовья (97,2%) и является стрессоустойчивым [10].

Иная картина установлена при анализе концентраций некоторых метаболитов и активности ферментов в крови подопытных кур в течение периода восстановления. После обработок через 30 суток отмечена тенденция к росту уровня альбуминов на 20,0%, которые играют ключевую роль в поддержании онкотического давления плазмы крови, транспорта различных веществ, в т.ч. гормонов щитовидной железы и др. Кроме того, можно предположить о более полноценном обеспечении клеток организма кур свободными аминокислотами в течение восстановительного периода. В этот период возрастает потребность в дополнительной энергии, которая отчасти может восполниться за счет интенсификации катаболизма белков, участия аминокислот в реакциях глюконеогенеза и, соответственно, окисления моносахаридов.

Активизация взаимосвязей аминокислотного, углеводного и энергетического обменов в период восстановления во многом сопряжена с активностью двух ферментов – аланинаминотрансферазой и аспартатаминотрансферазой. Однако выявлена низкая активность АЛТ у кур в течение эксперимента, но с тенденцией к росту, через 30 суток активность АЛТ возросла в 1,7 раза ($P < 0,05$) по сравнению с первоначальными цифровыми значениями до обработки. Активность АСТ в крови опытных кур изменялась в течение эксперимента в пределах физиологической нормы.

Активный участник энергетического обмена в мышцах – креатинфосфокиназа, конечный продукт обмена веществ, образующийся в мышцах в результате неферментативного распада креатинфосфата – креатинин. Его концентрация в крови через 15 суток после деакаризации увеличилась в 1,3 раза ($P < 0,001$), через 30 суток уровень данного метаболита также превышал цифровые значения до обработок, но с недостоверным характером. При этом активность креатинфосфокиназы в течение эксперимента плавно снижалась с $1296,60 \pm 55,81$ до $1055,40 \pm 251,88$ Е/л, но зафиксированные изменения статистически незначимые, поэтому можно предположить об оптимальной интенсивности энергетического обмена в мышцах.

Центральную роль в энергетическом обмене кур играют углеводы, особенно глюкоза. Ее концентрация в крови в течение эксперимента увеличилась на 20,5% ($P < 0,05$) по сравнению с численными данными до обработки. Однако в конце эксперимента уровень глюкозы в крови не достигал физиологической нормы для кур, а лишь стремился к ее нижним границам. Активность лактатдегидрогеназы имела уверенную динамику к снижению, что обуславливает, возможное, преобладание аэробной доли гликолиза на фоне восстановления организма яичных кур. При этом процессе клетки получают наибольший выход энергии, чем при анаэробном гликолизе. Через 30 суток после обработок ее активность достоверно снизилась в 1,8 раза ($P < 0,001$) по сравнению с цифровыми значениями до деакаризации. Активность α -амилазы увеличилась через 15 суток в 1,3 раза ($P < 0,01$), через 30 суток – в 1,7 раза ($P < 0,001$) по сравнению с цифровыми данными до обработки кур. Следует отметить, тенденцию к интенсификации углеводно-энергетического обмена в организме яичных кур на фоне деакаризации, что позволяет прогнозировать восстановление уровня глюкозы в крови подопытных кур до физиологической нормы.

Известно, что при недостатке углеводов в организме кур при выздоровлении включаются адаптационные механизмы, например, мобилизация липидов. Уровень триглицеридов через 30 суток после обработок снизился в 1,5 раза. Возможно, указанное обусловлено большими потерями энергетических субстратов в восстановительный период, включая пониженный относительно нормы уровень глюкозы в крови. Концентрация холестерина на 30 сутки после деакаризации также уменьшилась в 1,4 раза по сравнению с первичными данными. Высокий расход данного метаболита, очевидно, зафиксирован на фоне восстановительных процессов, в частности целостности клеточных структур, а также поддержания синтеза половых стероидных гормонов. Анализ этих показателей выявил тенденцию к снижению интенсивности липидного обмена, но различия не были статистически значимыми и соответствовали физиологической норме.

Рассмотрены особенности саногенеза организма яичных кур в возрасте девяти месяцев на фоне деакаризации при дерманиссиозе. Средняя степень заклещеванности птичника и возраст кур-несушек, очевидно, обуславливают у них слаботекущий характер восстановления на фоне лечения, однако низкие значения некоторых изученных в эксперименте метаболитов свидетельствуют о хроническом течении стресс-реакции в их организме. Зафиксированная интенсификация катаболических процессов, очевидно, необходима организму для обеспечения механизмов саногенеза дополнительной энергией. Кроме того, описывая некоторые гематологические изменения в крови яичных кур, можно отметить у них состояние стресса во время паразитирования красного куриного клеща, заявленное не противоречит другим исследованиям [11].

Заключение. Установлена высокая активность акарицидного средства на основе Д-цифенотрина, пиперонилбутоксида и пирипроксифена при дерманиссиозе яичных кур. В их организме выявлена тенденция к гармонизации физиолого-биохимических процессов на фоне противопаразитарных обработок, что свидетельствует о запуске комплекса защитно-приспособительных механизмов - саногенеза. В крови яичных кур после деакаризации выявлена нормализация уровня эритроцитов, лейкоцитов, концентрации гемоглобина, повышение функциональной активности щитовидной железы, тенденция к нормализации углеводно-энергетического обмена с преобладанием аэробной доли гликолиза, при этом выявлена значительная мобилизация энергетических резервов организма, реализуемая прежде всего за счет активизации метаболизма углеводов.

Список источников

1. Koç, N. Biochemical and molecular mechanisms of acaricide resistance in *Dermanyssus gallinae* populations from Turkey / N. Koç, E. İnak, S. Nalbantoğlu [et al.] // Pesticide Biochemistry and Physiology. — 2022. — Vol. 180. — P. 104985.
2. Küntüz, T. Navigating the resistance: Current perspectives on ectoparasite control in veterinary medicine / T. Küntüz, Y. Güneş, A. B. Sarı [et al.] // Journal of Istanbul Veterinary Sciences. — 2023. — Vol. 7(2). — P. 56–67.
3. Rodney, S. I. Estimating the toxicity of pesticide mixtures to aquatic organisms: A review / S. I. Rodney, R. S. Teed, D. R. Moore // Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal. — 2013. — Vol. 19(6). — P. 1557–1575.
4. Dael, L. Beyond the static lab: environmental variability in genetically modified mosquito target gene identification for malaria control / L. Dael, M. L. Simões // Current Opinion in Insect Science. — 2026. — P. 101489.
5. Индюхова, Е. Н. Саногенетический статус организма яичных кур при дерманиссиозе на фоне деакаризации / Е. Н. Индюхова, Т. О. Азарнова, М. В. Арисов [и др.] // Российский паразитологический журнал. — 2025. — Т. 19. — № 2. — С. 250–262. — DOI: 10.31016/1998-8435-2025-19-2-250-262.
6. Индюхова, Е. Н. Эффективность комбинированного инсектоакарицидного препарата при деакаризации птицеводческих цехов / Е. Н. Индюхова, М. В. Арисов, Т. О. Азарнова [и др.] // Ветеринария. — 2025. — № 8. — С. 37–40. — DOI: 10.30896/0042-4846.2025.28.8.37-40
7. Индюхова, Е. Н. Влияние обработки водной эмульсией препарата «Д-цифенотрин Комбо» кур родительского стада яичного кросса с дерманиссиозом на результативность инкубации / Е. Н. Индюхова, Т. О. Азарнова, М. В. Арисов, В. И. Максимов // Ветеринарный врач. — 2026. — № 1. — С. 79–86. — DOI: 10.33632/1998-698X_2026_1_79.
8. Sabater, M. Avian haematology and biochemistry 1. Haematology / M. Sabater, N. Forbes // In Practice. — 2014. — Vol. 36(10). — P. 510–518. — DOI: 10.1136/inp.g5870.

9. Decuypere, E. Thyroid hormone availability and activity in avian species: a review / E. Decuypere, P. Van As, S. Van der Geyten, V. M. Darras // Domestic Animal Endocrinology. — 2005. — Vol. 29(1). — P. 63–77.
10. Комарчев, А. С. Оценка и отбор исходных линий отечественного яичного кросса СП789 по комплексу продуктивных, воспроизводительных признаков и расходу корма на единицу продукции / А. С. Комарчев, Л. И. Малахеева, Е. И. Куликов [и др.] // Птицеводство. — 2022. — № 9. — С. 16–20. — DOI: 10.33845/0033-3239-2022-71-9-16-20.
11. Sárkány, P. Challenges of *Dermanyssus gallinae* in poultry: biological insights, economic impact and management strategies / P. Sárkány, Z. Bagi, Á. Süli [et al.] // Insects. — 2025. — Vol. 16(1). — P. 89.

References

1. Koç, N. Biochemical and molecular mechanisms of acaricide resistance in *Dermanyssus gallinae* populations from Turkey / N. Koç, E. İnak, S. Nalbantoğlu [et al.] // Pesticide Biochemistry and Physiology. — 2022. — Vol. 180. — P. 104985.
2. Küntüz, T. Navigating the resistance: Current perspectives on ectoparasite control in veterinary medicine / T. Küntüz, Y. Güneş, A. B. Sarı [et al.] // Journal of Istanbul Veterinary Sciences. — 2023. — Vol. 7(2). — P. 56–67.
3. Rodney, S. I. Estimating the toxicity of pesticide mixtures to aquatic organisms: A review / S. I. Rodney, R. S. Teed, D. R. Moore // Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal. — 2013. — Vol. 19(6). — P. 1557–1575.
4. Dael, L. Beyond the static lab: environmental variability in genetically modified mosquito target gene identification for malaria control / L. Dael, M. L. Simões // Current Opinion in Insect Science. — 2026. — P. 101489.
5. Induhova, E. N. Deacarization-associated sanogenetic status of the organism of laying hens with dermanyssosis / E. N. Induhova, T. O. Azarnova, M. V. Arisov [et al.] // Russian Journal of Parasitology. — 2025. — Vol. 19(2). — P. 250–262. — DOI: 10.31016/1998-8435-2025-19-2-250-262.
6. Induhova, E. N. The effectiveness of a combined insectoacaricide preparation in the decarization of poultry farms / E. N. Induhova, M. V. Arisov, T. O. Azarnova [et al.] // Veterinary medicine. - 2025. — No. 8. - P. 37-40. — DOI: 10.30896/0042-4846.2025.28.8.37-40
7. Induhova, E. N. Effects of treatment of laying hens with dermanyssosis in parent flock with a D-Cyphenothrin combo aqueous emulsion on incubation efficiency/ E. N. Induhova, T. O. Azarnova, M. V. Arisov, V. I. Maximov // The Veterinarian. — 2026. — No. 1. — P. 79–86. — DOI: 10.33632/1998-698X_2026_1_79.
8. Sabater, M. Avian haematology and biochemistry 1. Haematology / M. Sabater, N. Forbes // In Practice. — 2014. — Vol. 36(10). — P. 510–518. — DOI: 10.1136/inp.g5870.
9. Decuypere, E. Thyroid hormone availability and activity in avian species: a review / E. Decuypere, P. Van As, S. Van der Geyten, V. M. Darras // Domestic Animal Endocrinology. — 2005. — Vol. 29(1). — P. 63–77.
10. Komarchev, A. S. Evaluation and selection of initial lines of the domestic SP789 egg cross based on a set of productive and reproductive traits and feed consumption per unit of production / A. S. Komarchev, L. I. Malaheeva, E. I. Kulikov [et al.] // Птицеводство. — 2022. — № 9. — С. 16–20. — DOI: 10.33845/0033-3239-2022-71-9-16-20.
11. Sárkány, P. Challenges of *Dermanyssus gallinae* in poultry: biological insights, economic impact and management strategies / P. Sárkány, Z. Bagi, Á. Süli [et al.] // Insects. — 2025. — Vol. 16(1). — P. 89.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 30.03.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 104 – 109
The Veterinarian. 2026; (3): 104 – 109

Научная статья
УДК 619:616.995.428-07:636.3
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_104

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАННЫХ ОБРАБОТОК АКАРИЦИДАМИ НА ОСНОВЕ ДИАЗИНОНА И ДЕЛЬТАМЕТРИНА ПРИ ПСОРОПТОЗЕ ОВЕЦ В УСЛОВИЯХ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

Вадим Анатольевич Шагров, vetupr@rambler.ru
Багама Манапович Багамаев, доктор ветеринарных наук, bagamaev60@mail.ru

Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Багама Манапович Багамаев.

Аннотация. Псороптоз (накожниковая чесотка) овец, вызываемый клещом *Psoroptes ovis*, остаётся актуальной проблемой овцеводства Ставропольского края, причиняя значительные экономические потери. Заболевание приводит к снижению шерстной (на 30 - 50%) и мясной продуктивности, а также к преждевременной выбраковке животных. В условиях хозяйства края с высоким уровнем инвазионного фона проведено сравнительное исследование эффективности однократных ваннных обработок овец двумя акарицидами: диазиноном (0,025%) и дельтаметрином (0,006%). Животных после обработки совместно содержали с овцами, спонтанно заражёнными *P. ovis* (не менее 10 носителей на группу). Наблюдение вели в течение 35 суток с ежедневным клиническим осмотром и микроскопией соскобов. В контрольной группе (обработка водой) клещей обнаружили уже на 7-е сутки, к 35-м суткам инвазией было охвачено 100% животных. Обработка диазиноном обеспечила отсутствие клещей до 21 суток, однако к 30-м суткам поражённость составила 26,7%, а к 35-м - 43,3% с возобновлением клинических признаков (зуд, расчёсы). Дельтаметрин продлил «чистый» период до 27 суток; за 35 суток выявлено лишь 6,7% поражённых особей, клинические симптомы отсутствовали полностью.

Ключевые слова: псороптоз овец, *Psoroptes ovis*, ваннные обработки, диазинон, дельтаметрин, эффективность, реинвазия, Ставропольский край

Для цитирования: Шагров В. А., Багамаев Б. М. Сравнительная эффективность ваннных обработок акарицидами на основе диазинона и дельтаметрина при псороптозе овец в условиях Ставропольского края // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 104 – 109. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_104

COMPARATIVE EFFICACY OF BATH TREATMENTS WITH DIAZINON AND DELTAMETHRIN-BASED ACARICIDES AGAINST SHEEP PSOROPTOSIS IN THE STAVROPOL TERRITORY

Vadim A. Shagrov, vetupr@rambler.ru
Bagama M. Bagamaev, doctor of veterinary sciences, bagamaev60@mail.ru

Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russian Federation

Corresponding author: Bagama Manapovich Bagamaev.

Abstract. Psoroptosis (cutaneous scabies) of sheep caused by the tick *Psoroptes ovis* remains an urgent problem of sheep breeding in the Stavropol Territory, causing significant economic losses. The disease leads to a decrease in woolen (by 30-50%) and meat productivity, as well as to premature rejection of animals. In the conditions of the farm of the region with a high level of invasive background, a comparative study of the effectiveness of single bathroom treatments of sheep with two acaricides was carried out: diazinone (0.025%) and deltamethrin (0.006%). Animals after treatment were co-housed with sheep spontaneously infected with *P. ovis* (at least 10 carriers per group). Observation was carried out for 35 days with daily

clinical examination and microscopy of the scrapings. In the control group (water treatment), ticks were found already on the 7th day, by the 35th day 100% of animals were covered by invasion. Diazinon treatment ensured the absence of ticks for up to 21 days, however, by the 30th day, the incidence was 26.7%, and by the 35th - 43.3% with the resumption of clinical signs (itching, calculations). Deltamethrin extended the "clean" period to 27 days; for 35 days, only 6.7% of affected individuals were detected, clinical symptoms were completely absent.

Keywords: psoroptosis of sheep, *Psoroptes ovis*, bath treatments, diazinon, deltamethrin, effectiveness, reinfection, Stavropol Territory

Введение. В Ставропольском крае овцеводство выступает одной из опорных подотраслей АПК, гарантирующих продовольственную независимость региона. Однако эпизоотический фон в отарах остаётся напряжённым из-за широкого распространения эктопаразитозов. Абсолютное лидерство среди них принадлежит псороптозу - нахожниковой чесотке, этиологическим агентом которой выступает клещ *Psoroptes ovis*. Специфика местного климата (засушливая жара летом, влажные мягкие зимы, высокая межсезонная контрастность) поддерживает циркуляцию возбудителя практически без перерывов. В условиях зимнего стойлового содержания скученность поголовья вкупе с повышенной влажностью кожи ускоряет горизонтальный перенос паразита. В летние месяцы резервацией инвазии служат изолированные кожные ниши - паховые зоны и внутренняя поверхность ушных раковин [1].

Ущерб от псороптоза многокомпонентен: падение выхода шерсти (на 20–35%), потеря мясных кондиций (отставание в росте, истощение), утилизация или удешевление кожевенного сырья, а также значительные траты на повторные обработки. В контексте курса на импортозамещение и расширение экспорта животноводческой продукции данная патология трансформируется из узковетеринарной в продовольственно-экономическую угрозу [2, 3].

Исторически основным методом борьбы с псороптозом в крупных товарных хозяйствах края остаются ванны процедуры - технология, адаптированная к пастбищной системе содержания и зональной вертикали. Тем не менее в последние годы обнажилось резкое противоречие: несмотря на наличие современных акарицидных препаратов, на практике доминируют средства устаревших классов (преимущественно фосфорорганические соединения). Немалая часть таких препаратов либо утратила заявленную активность из-за несоблюдения условий хранения (температурные сбои, истекший срок годности), либо работает на грани чувствительности природных популяций *P. ovis*, провоцируя селекцию резистентных генотипов [4, 5]. Следствием становится феномен «мнимой выгоды»: хозяйства вынужденно сокращают межобработочные интервалы, растёт расход акарицидов и трудозатраты, а реинвазия возвращается уже через 10 - 14 дней.

Современный рынок располагает иными классами инсектоакарицидов - синтетическими пиретроидами (дельтаметрин, циперметрин) и системными макроциклическими лактонами (ивермектин, абамектин), способными разрывать цепочку передачи инвазии вне зависимости от погодных факторов. Однако механическое внедрение этих разработок без полевых испытаний в конкретных условиях региона невозможно и чревато провалами [6].

В типичном для Ставропольского края овцеводческом хозяйстве с длительной неблагоприятной историей по псороптозу провести сравнительную оценку протективной эффективности однократных ваннных обработок двумя акарицидами с отличающимися механизмами действия: на базе диазинона (ФОС) и дельтаметрина (пиретроид).

Задачи исследования - установить длительность «чистого» периода после обработки до первых находок клещей, проследить кумуляцию новых очагов поражения, вычислить финальный уровень поражённости отар в постобработочный период (35 суток).

Материалы и методы. Полевой этап выполнен на базе СПК «Магамадзапирова» Ипатовского района Ставропольского края. Хозяйство многолетнее стационарно неблагоприятно по псороптозу овец, система противоклещевых обработок в последние 3 года была нерегулярной. Лабораторная диагностика проведена на кафедре терапии и фармакологии Ставропольского ГАУ.

Принцип постановки опыта базировался на моделировании естественного инвазионного фона без искусственного заражения, что максимально приближает результаты к реальным производственным условиям.

Сформированы три группы клинически здоровых овец-аналогов (n=30 в каждой) по принципу условных групп (пол, возраст, живая масса, шерстная продуктивность сопоставимы). Животные содержались в одинаковых условиях кормления и поения.

Группа I (опытная, диазинон): однократная ванная обработка 0,025% водной эмульсией препарата «Диазэкто» (действующее вещество - диазинон, 600 г/л).

Группа II (опытная, дельтаметрин): однократная ванная обработка 0,006% водной эмульсией препарата «Ратокс» (действующее вещество - дельтаметрин, 25 г/л).

Группа III (контрольная): обработка чистой водой с аналогичной технологической выдержкой.

Все процедуры проведены в пропływной ванне купочного типа с принудительным погружением. Экспозиция составляла от 50 до 300 секунд в зависимости от загрязненности руна. Температура рабочих эмульсий поддерживалась в диапазоне 22–25°C. Концентрации выбраны согласно инструкциям производителей, как минимальные терапевтические.

Для создания естественного прессинга через 24 часа после обработки всех овец (опытные и контроль) поместили совместно с 10 овцами-носителями псороптоза (подтверждено микроскопически) в одно помещение. Контакт поддерживался в течение всего срока наблюдения (35 суток).

Верификация псороптоза выполнена двухэтапно: Клинический скрининг - ежедневный осмотр кожного покрова с акцентом на типичные зоны (лопатки, бока, круп, корень хвоста). Регистрировали очаги алопеций, шелушения, корочек. Лабораторное подтверждение - при обнаружении любых подозрительных изменений проводили глубокий соскоб кожи до появления капель крови (4-5 соскобов с периферии очага). Микроскопию осуществляли в 100% глицерине (иммерсия $\times 10$, $\times 40$). Дополнительно применялась авторская модификация экспресс-диагностики с использованием теплового компрессионного метода, что позволило сократить время детекции до 3–5 минут на одно животное.

Учитываемые показатели: день появления первых клинических симптомов и обнаружения живых клещей в каждой группе; кумулятивное число новых очагов инвазии на 7, 14, 21, 28, 35-е сутки; доля пораженных особей на 30-е сутки (как ключевой критерий эффективности). Результаты обработаны с использованием описательной статистики, различия между группами оценивали по критерию χ^2 ($p < 0,05$).

Результаты исследований и их обсуждение. Сопоставление экспериментальных результатов обнаружило статистически достоверные расхождения в защитном потенциале двух акарицидных средств. Ключевым фактором здесь выступила не столько концентрация действующего вещества, сколько особенности фармакокинетики, длительность остаточного присутствия препарата на кутикулярном и эпидермальном уровнях, а также специфика взаимодействия с интегументом животного.

Данные, обобщенные в таблице 1, свидетельствуют: в контроле (обработка водой) жизнеспособные особи *P. ovis* фиксировались уже к исходу 7-х суток. Этот факт, во-первых, подтверждает изначально высокий инвазионный пресс в обследуемом хозяйстве, во-вторых, доказывает корректность смоделированной схемы контактного инфицирования подопытных отар.

Применение диазинона («Диазэкто») гарантировало полное отсутствие клещевой инвазии на протяжении трёх недель (21 сутки). Тем не менее к 28-му дню регистрировали возвратное появление паразитов. В свою очередь, обработка дельтаметрином («Ратокс») удлинила безинвазионный интервал до 27 суток - на 6 дней продолжительнее, чем у препарата сравнения.

Таблица 1 – Сроки реинвазии *Psoroptes ovis* после однократных ваннных обработок (обнаружение живых клещей по дням)

Препарат	1 сут	3 сут	7 сут	14 сут	21 сут	28 сут	35 сут
Ратокс (дельтаметрин)	-	-	-	-	-	+	+
Диазэкто (диазинон)	-	-	-	-	-	+	+
Контроль (вода)	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» - обнаружены живые клещи, «-» - не обнаружены

Важно подчеркнуть: при совпадении срока первичного детектирования возбудителя (28-е сутки) в обеих обработанных группах зафиксированы глубокие расхождения по интенсивности последующей реинвазии. Для животных, получивших «Диазэкто», к 35-му дню было зарегистрировано возникновение 7 свежих очагов поражения. В противоположность этому, в группе, обработанной «Ратокс», отмечено лишь 2 подобных эпизода (см. таблицу 3).

По данным, сведённым в таблицу 2, наблюдается кумулятивный эффект. В контроле фиксировалось стремительное, подобное лавине увеличение числа очагов: к исходу 21-х суток насчитывалось 5, а к 35-м - уже 20 (что соответствует поражённости 66,7% от общего поголовья). При использовании диазинона удавалось сдерживать прирост количества очагов до трёхнедельного рубежа, однако в последующем был отмечен «прорыв» - 4 очага к 28-м суткам и 7 - к 35-м. В случае же применения дельтаметрина ситуация удерживалась практически на нулевых значениях вплоть до 28-го дня, и только на завершающем этапе наблюдения были выявлены единичные новые очаги (один - на 28-е сутки, два - на 35-е).

Таблица 2 – Накопление новых очагов псороптоза в группах (кумулятивное количество, экз.)

Препарат	7 сут	14 сут	21 сут	28 сут	35 сут
Ратокс	0	0	1	1	2
Диазэкто	0	0	0	4	7
Контроль	3	3	5	14	20

Наиболее репрезентативным критерием при оценке протективной эффективности акарицидов в условиях постоянного инвазионного фона следует признать долю особей с развёрнутой клинической картиной псороптоза, а не только наличие единичных клещей в соскобах. Именно этот показатель интегрирует как резистентность возбудителя, так и длительность остаточного действия препарата, а также способность животного к самоочищению от паразитов.

Как представлено в таблице 3, к исходу 30-х суток эксперимента межгрупповые различия достигли максимальной выраженности. В контрольной группе (обработка водой) доля клинически больных овец составила 100% - у всех животных регистрировались интенсивный зуд, обширные alopecii, корки и расчёсы в области холки, спины и крупа. Это закономерно, учитывая отсутствие какого-либо акарицидного воздействия и высокий исходный пресс инвазии.

Таблица 3 – Количество и доля овец с клиническим псороптозом на 30-е сутки после обработки

Препарат	Всего в группе	Поражено (гол.)	Поражено (%)
Ратокс	30	2	6,7%
Диазэкто	30	8	26,7%
Контроль	30	20	66,7%

При применении диазинона («Диазэкто») к 30-м суткам клиническая симптоматика возобновилась у 26,7% обработанных животных (8 голов из 30). Характерно, что первично очаги возникали в типичных местах - подгрудке, внутренней поверхности бёдер и паховых складках, куда при ванной обработке препарат проникает хуже всего. У поражённых особей отмечалось беспокойство, периодические расчёсы и начальные признаки alopecii. У остальных 73,3% овец внешних признаков болезни не наблюдалось, хотя при микроскопии соскобов у части из них выявлялись единичные экземпляры *P. ovis* - стадия субклинического носительства.

В группе дельтаметрина («Ратокс») к 30-м суткам доля клинически больных составила лишь 6,7% (2 особи из 30). При этом клинические проявления были минимальными - лёгкое шелушение кожи в единичных очагах без выраженного зуда и alopecii. Важно подчеркнуть, что у остальных 93,3% овец отсутствовали даже субклинические признаки инвазии, что свидетельствует о длительном надёжном барьере, создаваемом дельтаметрином на поверхности кожного покрова.

Дельтаметрин обеспечил в 4 раза меньшую клиническую поражённость по сравнению с диазиноном (6,7% против 26,7%). Разница статистически значима ($p < 0,05$). Более того, в группе дельтаметрина полностью отсутствовали случаи тяжёлой клиники, тогда как при использовании диазинона у 26,7% животных регистрировали классическую картину псороптоза с нарушением поведения и снижением продуктивности.

Для хозяйств Ставропольского края, практикующих ванный метод, переход на дельтаметрин-содержащие препараты позволяет: Удлинить межобработочный интервал с 10-14 дней (при ФОС) до 25-30 дней. Снизить трудозатраты и расход воды (меньше число купок за сезон). Отсрочить развитие резистентности за счет ротации с другими классами. Однако следует учитывать, что дельтаметрин

токсичен для гидробионтов и пчел, что накладывает ограничения при утилизации отработанных ванн (недопустим слив в водоемы) [9].

Заключение. В условиях СПК «Магамадзапирова» (Ипатовский район) на фоне высокой исходной заклещёванности отар сравнивали два акарицидных режима. Установлено: 27-суточный защитный период обеспечивает только однократная ванна в 0,006% эмульсии дельтаметрина («Ратокс»). Диазинон (0,025%, «Диазэкто») уступает — разрыв до реинвазии составляет неделю. Принципиально разнится и эпизоотический прогноз: за 35 дней наблюдения на фоне диазинона ожидалось бы семь новых очагов с поражённостью 26,7% стада. Реальность при дельтаметрине иная — лишь два очага и 6,7% инвазированных особей, то есть вчетверо меньше.

Корень различий — не в концентрациях, а в механизмах. Дельтаметрин необратимо блокирует натриевые каналы членистоногих, тогда как диазинон быстро гидролизует на коже и в среде, теряя остаточную активность. Для Ставропольских хозяйств, практикующих ванную обработку, выбор пиретроидов («Ратокс» и аналоги) биологически и экономически оправдан. Альтернатива — учащение обработок, рост акарицидной нагрузки и ускоренная селекция резистентных штаммов клещей. Переход на дельтаметрин, напротив, удлиняет интервалы между обработками, снижает суммарное применение химии и тормозит развитие устойчивости.

Список источников

1. Толоконников, В.П. Эпизоотология псороптоза овец в аридной зоне Ставропольского края / В.П. Толоконников, А.Г. Шихалиева // Российский паразитологический журнал. - 2021. - Т. 15, № 2. - С. 44-51.
2. Белова, Е.А. Сравнительная эффективность акарицидных средств при псороптозе овец в условиях Северного Кавказа / Е.А. Белова, С.Н. Лутфуллин // Ветеринария Кубани. - 2020. - № 4. - С. 23-26.
3. O'Brien, D.J. The sheep scab mite *Psoroptes ovis*: biology, epidemiology and control / D.J. O'Brien // Irish Veterinary Journal. - 2019. - Vol. 72, No. 1. - P. 5-14.
4. Варламова, А.И. Мониторинг резистентности возбудителя псороптоза овец к пиретроидам в хозяйствах Ставрополья / А.И. Варламова, Р.С. Кадырова // Ветеринарная патология. - 2022. - № 3(81). - С. 58-64.
5. Забродина, Л.А. Фармакодинамика диазинона и дельтаметрина при наружном применении у овец / Л.А. Забродина, П.И. Смирнов // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. - 2021. - № 2(50). - С. 30-36.
6. van den Broek, A.H. The efficacy of a single treatment with deltamethrin pour-on against *Psoroptes ovis* in sheep / A.H. van den Broek, S.J. Birtles, P.J. Bates // Veterinary Record. - 2020. - Vol. 186, No. 14. - P. 462-467.
7. Кузьминов, А.О. Оценка остаточного действия акарицидов при ванной обработке овец в условиях круглогодичной инвазии / А.О. Кузьминов // Труды Ставропольского научно-исследовательского института животноводства. - 2020. - Вып. 12. - С. 87-93.
8. Горчаков, В.В. Экономический ущерб при псороптозе овец в хозяйствах Юга России / В.В. Горчаков, Т.Н. Мельникова // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. - 2023. - Т. 24, № 1. - С. 112-119.
9. Рекомендации по борьбе с псороптозом овец в хозяйствах различных форм собственности / Б.М. Багамаев, В.А. Шагров, Н.В. Федоренко. - Ставрополь, 2022. - 32 с.
10. Pfister, K. Field evaluation of deltamethrin and diazinon for control of sheep scab under high challenge conditions / K. Pfister, D. Schmid, P. Junquera // Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. - 2022. - Vol. 30. - P. 100712.

References

1. Tolokonnikov, V.P. Epizootology of psoroptosis in sheep in the arid zone of Stavropol Krai / V.P. Tolokonnikov, A.G. Shikhalieva // Russian Journal of Parasitology. - 2021. - Vol. 15, No. 2. - Pp. 44-51.
2. Belova, E.A. Comparative effectiveness of acaricidal agents for psoroptosis in sheep in the North Caucasus / E.A. Belova, S.N. Lutfullin // Veterinary Science of Kuban. - 2020. - No. 4. - Pp. 23-26.
3. O'Brien, D.J. The sheep scab mite *Psoroptes ovis*: biology, epidemiology and control / D.J. O'Brien // Irish Veterinary Journal. - 2019. - Vol. 72, No. 1. - P. 5-14.
4. Varlamova, A.I. Monitoring the resistance of the causative agent of psoroptosis in sheep to pyrethroids on farms in Stavropol / A.I. Varlamova, R.S. Kadyrova // Veterinary pathology. - 2022. - No. 3 (81). - P. 58-64.

5. Zbrodina, L.A. Pharmacodynamics of diazinon and deltamethrin for external use in sheep / L.A. Zbrodina, P.I. Smirnov // *Current issues of veterinary biology*. - 2021. - No. 2 (50). - P. 30-36.
6. van den Broek, A.H. The efficacy of a single treatment with deltamethrin pour-on against *Psoroptes ovis* in sheep / A.H. van den Broek, S.J. Birtles, P.J. Bates // *Veterinary Record*. - 2020. - Vol. 186, No. 14. - P. 462-467.
7. Kuzminov, A.O. Evaluation of the residual effect of acaricides during bath treatment of sheep under conditions of year-round infestation / A.O. Kuzminov // *Transactions of the Stavropol Research Institute of Animal Husbandry*. - 2020. - Issue 12. - P. 87-93.
8. Gorchakov, V.V. Economic damage from psoroptosis of sheep on farms in the South of Russia / V.V. Gorchakov, T.N. Melnikova // *Agrarian Science of the Euro-North-East*. - 2023. - Vol. 24, No. 1. - P. 112-119.
9. Recommendations for the control of sheep scab in farms of various types of ownership / B. M. Bagamaev, V. A. Shagrov, N. V. Fedorenko. - Stavropol, 2022. - 32 p.
10. Pfister, K. Field evaluation of deltamethrin and diazinon for control of sheep scab under high challenge conditions / K. Pfister, D. Schmid, P. Junquera // *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. - 2022. - Vol. 30. - P. 100712.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 20.04.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 110 – 115
The Veterinarian. 2026; (3): 110 – 115

Научная статья

УДК 619.616-095:636.2.034

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_110

ПОДБОР ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛОКУСОВ ДЛЯ ПЦР-РВ-ИНДИКАЦИИ *BABESIA DIVERGENS*

Рафкат Искандарович Шангараев, кандидат ветеринарных наук, rafkat.shangaraev@mail.ru

Константин Валерьевич Усольцев, кандидат ветеринарных наук, ukv3@mail.ru

Мария Евгеньевна Горбунова, кандидат биологических наук, maria.metax@bk.ru

Константин Анатольевич Осянин, кандидат биологических наук, kostja-2003@yandex.ru

Алина Ильфатовна Хамидуллина, аспирант, ha.ilfatovna@gmail.com

Гайша Рамилевна Сальманова, aisha--mila@mail.ru

Камил Саубанович Хаертынов, кандидат биологических наук, khaerkamil@mail.ru

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Рафкат Искандарович Шангараев.

Аннотация. Бабезиоз крупного рогатого скота является широко распространенной кровепаразитарной болезнью во всем мире, возбудителями которой являются простейшие из рода *Babesia*. Экономический ущерб от бабезиоза обусловлен гибелью животных, которая может достигать до 80,0 %; у инфицированных животных снижается продуктивность и ухудшается качество продукции. Также следует учитывать огромные расходы на лечебно-профилактические мероприятия. В Российской Федерации (РФ) бабезиоз крупного рогатого скота широко распространен в южных регионах, пик инфицированности бабезиями приходится на летне-осенний период, когда переносчики – иксодовые клещи проявляют наибольшую активность. В диагностике бабезиоза решающее значение имеют лабораторные исследования. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) благодаря высокой чувствительности и специфичности имеет важное место в лабораторной диагностике бабезиоза. *Babesia divergens* является основным возбудителем бабезиоза крупного рогатого скота в Европе и в европейской части РФ. Данный вид патогенен для человека и поражает лиц с ослабленным иммунитетом. У крупного рогатого скота заболевание, вызванное *B. divergens* отличается тяжелым течением и высокой летальностью. Цель данной работы – поиск специфических генетических локусов и дизайн олигонуклеотидных праймеров, флуоресцентно-меченных зондов для ПЦР-диагностики *B. divergens*. Объектами исследования служили нуклеотидные последовательности генов *rap-1* и *cox1* *B. divergens*. Множественным выравниванием нуклеотидных последовательностей данных генов различных изолятов *B. divergens* идентифицированы консервативные локусы: у гена *rap-1* – 100-260 пар нуклеотидов (п.н.); у *cox1* – 120-220 п.н. На данные локусы разработаны олигонуклеотидные праймеры и зонды, описаны их краткие характеристики. Для контроля амплификации сконструирован положительный контрольный образец – генетическая вставка, содержащая маркерные локусы генов *rap-1* и *cox1* *B. divergens*.

Ключевые слова: бабезиоз, диагностика, крупный рогатый скот, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, праймеры, *Babesia divergens*

Для цитирования: Шангараев Р. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е., Осянин К. А., Хамидуллина А. И., Сальманова Г. Р., Хаертынов К. С. Подбор высокоспецифичных генетических локусов для ПЦР-РВ-индикации *Babesia divergens* // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 110 – 115. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_110

SELECTION OF HIGHLY SPECIFIC GENETIC LOCI FOR RT-PCR INDICATION OF *BABESIA DIVERGENS*

Rafkat I. Shangaraev, candidate of veterinary sciences, rafkat.shangaraev@mail.ru

Konstantin V. Usoltsev, candidate of veterinary sciences, ukv3@mail.ru
 Maria E. Gorbunova, candidate of biological sciences, maria.metax@bk.ru
 Konstantin A. Osyanin, candidate of biological sciences, kostja-2003@yandex.ru
 Alina I. Khamidullina, ha.ilfatovna@gmail.com
 Gaisha R. Salmanova, aisha--mila@mail.ru
 Kamil S. Khaertynov, candidate of biological sciences, khaerkamil@mail.ru

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Rafkat Iskandorovich Shangaraev.

Abstract. Bovine babesiosis is a widespread blood parasitic disease worldwide, caused by protozoa of the genus *Babesia*. The economic impact of babesiosis is due to animal mortality, which can reach up to 80 %; infected animals experience reduced productivity and deteriorated product quality. The enormous costs of treatment and preventive measures must also be taken into account. In the Russian Federation (RF), bovine babesiosis is widespread in southern regions, with peak incidence occurring in the summer and fall, when the ticks that carry it are most active. Laboratory testing is crucial in the diagnosis of babesiosis. Polymerase chain reaction (PCR), due to its high sensitivity and specificity, plays a key role in the laboratory diagnosis of babesiosis. *Babesia divergens* is the main causative agent of bovine babesiosis in Europe and the European part of the RF. This species is pathogenic for humans and affects individuals with weakened immune systems. In cattle, the disease caused by *B. divergens* is characterized by a severe course and high mortality. The aim of this work was to identify specific genetic loci and design oligonucleotide primers and fluorescently labeled probes for PCR diagnostics of *B. divergens*. The objects of the study were the nucleotide sequences of the *rap-1* and *cox1* genes of *B. divergens*. Multiple alignment of the nucleotide sequences of these genes from various *B. divergens* isolates identified conserved loci: in the *rap-1* gene - 100-260 nucleotide pairs (bp); in *cox1* - 120-220 bp. Oligonucleotide primers and probes were developed for these loci, their brief characteristics are described. To control the amplification, a positive control sample was constructed – a genetic insert containing the marker loci of the *rap-1* and *cox1* genes of *B. divergens*.

Keywords: babesiosis, diagnostics, cattle, real-time polymerase chain reaction, primers, *Babesia divergens*

Введение. Бабезиоз крупного рогатого скота имеет широкое распространение в мире и представляет большую угрозу для животных. Возбудителями бабезиоза крупного рогатого скота являются микроскопические кровяные паразиты, поражающие преимущественно эритроциты. В Российской Федерации бабезиоз крупного рогатого скота имеет наибольшее распространение в южных регионах, в которых отмечаются наиболее благоприятные климатические условия для переносчиков данных возбудителей – иксодовых клещей. Наибольшее количество инфицированных животных регистрируется летом и осенью [1]. Заболевание чаще всего протекает подостро и хронически, заболевшие животные подвергаются выбраковке [2].

У крупного рогатого скота встречаются следующие возбудители: *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Babesia divergens*, *Babesia major*, *Babesia ovata*. В Европе основным видом бабезий, инфицирующим крупный рогатый скот, является *B. divergens* [3]. К тому же *B. divergens* поражает людей с ослабленным иммунитетом. Следует отметить, что заболевание крупного рогатого скота и человека, вызванное данным видом, характеризуется тяжелым течением, с летальностью до 40,0 % [4]. Следовательно, разработка высокочувствительных диагностических тестов для индикации *B. divergens* имеет актуальность.

Диагностика бабезиоза крупного рогатого скота осуществляется комплексно с учетом эпизоотологических, клинических, патоморфологических данных и результатов лабораторных исследований [5]. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) благодаря высокой чувствительности и специфичности занимает важное место в диагностике инфекционных и инвазионных болезней животных и человека [6, 7]. Изучение генома возбудителя, анализ генов, кодирующих факторов патогенности бабезий дают возможность выбрать высокоспецифичные генетические локусы для разработки олигонуклеотидных праймеров для индикации ДНК возбудителей бабезиоза методом ПЦР. Геномная ДНК *B. divergens* имеет длину больше 10700 тыс. пар нуклеотидов (п.н.), содержание гуанин-цитозинового нуклеотидов равно, как и у других представителей рода *Babesia* около 40,0 %. Общее число генов равно 3741 [8].

Цель данной работы – поиск специфических генетических локусов и дизайн олигонуклеотидных праймеров, флуоресцентно-меченных зондов для ПЦР-диагностики *B. divergens*.

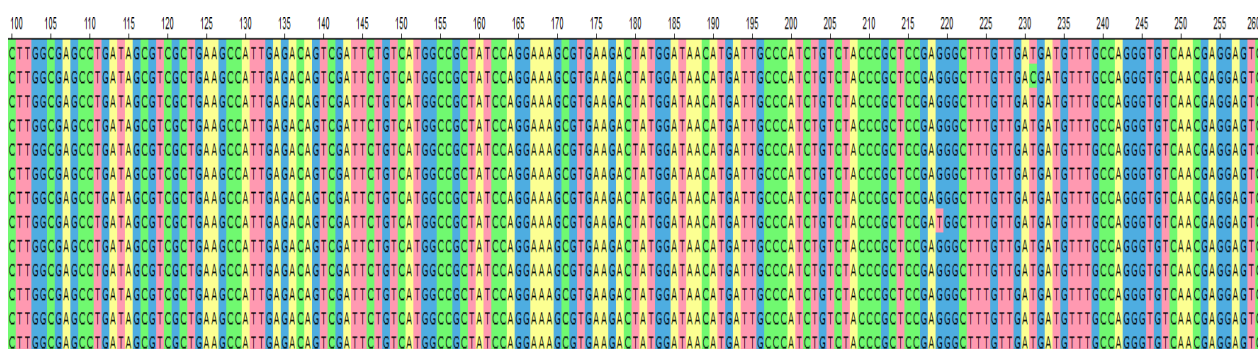
Материалы и методы. Объектами исследования служили нуклеотидные последовательности гена *rap-1 B. divergens*, кодирующего Rhoпрtry-ассоциированный белок с молекулярной массой 46 кДа. [9]. Для биоинформационного анализа были использованы следующие нуклеотидные последовательности гена *rap-1 B. divergens*, депонированные из базы данных NCBI (National Center of Biotechnology Information) GenBank ID: HQ538430.1, HQ538429.1, HQ538428.1, HQ538427.1, HQ538426.1, HQ538425.1, HQ538424.1, HQ538423.1, HQ538422.1, HQ538421.1, HQ538420.1, HQ538419.1, KJ699102.1.

Для биоинформационного анализа из базы данных NCBI были депонированы следующие нуклеотидные последовательности гена *cox1* [10] GenBank ID: MG344956.1, MG344937.1, MG344921.1, MG344848.1, MG344842.1, MG344839.1, MG344838.1, MG344837.1, MG344831.1, MG344829.1, MG344826.1, MG344821.1, MG344813.1, MG344812.1, MG344809.1, MG344811.1, MG344784.1.

Множественное выравнивание нуклеотидной последовательности генов *rap-1* и *cox1 B. divergens* было осуществлено на программе Unipro Ugene V33 («Унипро», Россия); дизайн олигонуклеотидных праймеров и положительного контрольного образца (ПКО) – с помощью программы Vector NTI 9.1 (Invitrogen Corporation, Карлсбад, США).

Результаты исследований и их обсуждение. Заболевание, вызываемое *B. divergens* у человека характеризуется тяжелым клиническим течением. Возбудитель представляет особую опасность для лиц с ослабленным иммунитетом, поражая органы ретикуло-эндотелиальной системы и вызывая интоксикацию. Из-за полиморфизма клинических проявлений, диагностика бабезиоза человека имеет определенные трудности. Экспресс-лабораторные тесты, например ПЦР дают возможность провести раннюю диагностику и начать терапию, уменьшая риск осложнений. Результаты множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей гена *rap-1* показали, что данный ген в позиции 100-260 пар нуклеотидов (п.н.) имеет консервативный локус (рисунок 1).

Рисунок 1 – Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей гена *rap-1 B. divergens*



У гена *cox1* в локусе 120-220 п.н. было выявлено минимальное число однонуклеотидных полиморфизмов (рисунок 2).

Рисунок 2 – Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей гена *cox1 B. divergens*



Данные локусы генов *rap-1* и *cox1* были выбраны для дизайна олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных зондов. Краткая характеристика разработанных олигонуклеотидных праймеров и зондов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентно-меченный зонд для индикации *B. divergens* методом ПЦР-PB

Ген	Обозначение олигонуклеотидов	Позиция в целевой последовательности (относительно GenBank ID: HQ538430.1 (<i>rap-1</i>), MG344956.1 (<i>cox1</i>))	Температура плавления T _m , °C	ГЦ-состав, %	Нуклеотидная последовательность 5' → 3'
<i>rap-1</i>	BdRAP1FP	116-136	56,2	55,0	cgtcgctgaagccattgaga
	BdRAP1P	209-232	65,3	60,5	FAM - catcaacaagcctcgagcg -RTQ1
	BdRAP1RP	238-256	56,5	63,2	cctcggtgacacccctggca
<i>cox1</i>	BdCOXFP	125-147	54,0	45,5	cttttggtcttggtgcttg
	BdCOX1P	162-186	62,8	58,3	Cy5- aatgtccaccagttccactcccc- BHQ2
	BdCOX1RP	188-217	54,5	34,5	tgaagaaatagaagtagataaagg aggt

Прямой праймер BdRAP1FP имеет длину 20 нуклеотидов, образует два димера, свободная энергия Гиббса которых не превышает 0,3 ккал /моль. Зонд BdRAP1P длиной 23 нуклеотидов, на 5'-конце зонд имеет флуоресцентную метку Карбоксифлуоресцеин (FAM), на 3'-конце – гаситель флуоресценции RTQ1. Зонд образует два димера со свободной энергией Гиббса 1,8 ккал / моль. Обратный праймер BdRAP1RP имеет длину 19 нуклеотидов, не образует димеров и шпилек.

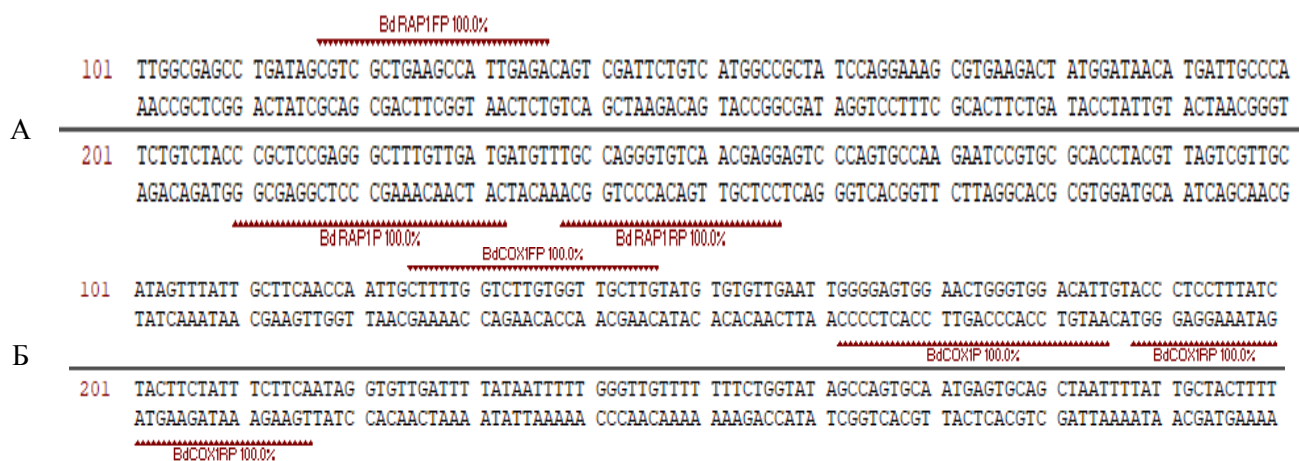
Олигонуклеотидные праймеры на ген *cox1* имеют следующие характеристики: прямой праймер BdCOXFP имеет длину 22 нуклеотида, не образует димеров и шпилек.

Флуоресцентный зонд BdCOX1P длиной 24 нуклеотидов, на 5'-конце имеет флуоресцентную метку Cy5 (цианин 5), на 3'-конце – гаситель флуоресценции BHQ2. Зонд BdCOX1P образует два димера и одну шпильку со свободной энергией Гиббса 2,1 и 4,5 ккал / моль соответственно.

Длина обратного праймера BdCOX1RP составляет 29 нуклеотидов. Данный олигонуклеотид не образует вторичные структуры (димеры и шпильки).

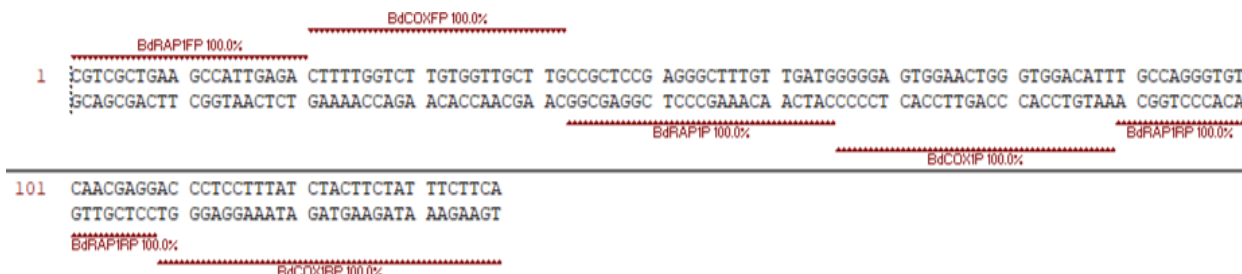
На рисунке 3 представлены места гибридизации разработанных олигонуклеотидных праймеров и зондов в целевых нуклеотидных последовательностях генов *rap-1* и *cox1* *B. divergens*.

Рисунок 3 – Места гибридизации прямого, обратного праймеров и флуоресцентного зонда в целевых нуклеотидных последовательностях генов *rap-1* (GenBank ID: HQ538430.1) и *cox1* (GenBank ID: MG344956.1) *B. divergens*



Для контроля амплификации указанных выше маркерных локусов генов *rap-1* и *cox1* был сконструирован положительный контрольный образец (ПКО) – специфическая вставка в плазмидной ДНК со следующей нуклеотидной последовательностью (5' → 3'): cgtcgcgtgaagccattgagacttttggtctt-gtggtgcttccgctccgagggtttgtgatggggagtggaactgggtggacattgccagggtgtcaacgaggaccctcttatctactctatttctca. Места гибридизации разработанных праймеров в нуклеотидной последовательности ПКО представлена на рисунке 4.

Рисунок 4 – Нуклеотидная последовательность положительного контрольного образца



Длина амплифицируемых фрагментов генов *rap-1* и *cox1* *B. divergens* составляет 140 и 92 п.н. BLASTn-анализ данных локусов показал отсутствие гомологичных им нуклеотидных последовательностей в базе данных NCBI.

Заключение. Проведен биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей генов *rap-1* и *cox1* *B. divergens*, в результате которого идентифицированы консервативные локусы с минимальным количеством однонуклеотидных полиморфизмов. На данные локусы осуществлен дизайн олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных зондов, установлены основные характеристики разработанных олигонуклеотидов. Для контроля амплификации сконструирован положительный контрольный образец – генетическая вставка с маркерными локусами генов *rap-1* и *cox1* *B. divergens*. Длина амплифицируемых участков генов *rap-1* и *cox1* составила 140 и 92 п.н. соответственно. BLASTn-анализом установлено отсутствие гомологичных нуклеотидных последовательностей к амплифицируемым участкам генов *rap-1* и *cox1* *B. divergens*. Следующий этап исследований будет посвящен оценке эффективности амплификации сконструированных олигонуклеотидов на целевой ДНК-матрице. После проведения лабораторных испытаний разработанные олигонуклеотиды можно использовать как специфические компоненты при разработке тест-систем на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для индикации ДНК *B. divergens* в патологическом материале.

Список источников

1. Эпизоотический мониторинг пироплазмидозов крупного рогатого скота (на примере бабезиоза) в субъектах Северо-Кавказского федерального округа России / С.Ш. Кабардиев, А.М. Биттиров, К.А. Карпущенко, В.Н. Скира // Прикаспийский вестник ветеринарии. – 2024. – № 4(9). – С. 43-48. – doi 10.33580/29490898_2024_4_9_43.
2. Эпизоотологический мониторинг и динамика сезонной восприимчивости крупного рогатого скота к бабезиозу и анаплазмозу / О.О. Скорнякова // Российский паразитологический журнал. – 2014. – № 4. – С. 34-39.
3. Бабезиоз крупного рогатого скота / Н.А. Николаев, К.С. Авдеюк, В.К. Пилипчук, Д.А. Трунова // Актуальные проблемы современной науки: сборник статей Международной научно-практической конференции, Пенза, 05 апреля 2022 года. – Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022. – С. 75-77.
4. Представители рода *Babesia*, их распространённость, генетическое разнообразие и роль в патологии человека и животных // М.О. Щепина [и др.] // Известия Иркутского государственного университета. – 2014. – Т. 7. – С. 80-90.
5. Бабезиоз (пироплазмоз) крупного рогатого скота. Часть 1 / В. Т. Заблочный, В.В. Белименко, Н.А. Ахмадов // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2012. – № 1. – С. 43-44.

6. Усовершенствование способов постановки ПЦР-РВ для индикации патогенных лептоспир / К. В. Усольцев, Р. И. Шангараев, К. С. Хаертынов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 1. – С. 73-78. – doi 10.33632/1998-698X_2025_1_73.
7. Подбор генетических маркеров для ПЦР-РВ индикации возбудителя babesиоза крупного рогатого скота / Р. И. Шангараев, К. В. Усольцев, М. Е. Горбунова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2026. – № 1. – С. 87-93. – doi 10.33632/1998-698X_2026_1_87.
8. High-Quality Draft Genome Sequence of *Babesia divergens*, the Etiological Agent of Cattle and Human Babesiosis / I. Cuesta [et al.] // Genome Announc. – 2014. – Vol. 2(6). – 01194-14. doi: 10.1128/genomeA.01194-14.
9. Identification and characterization of the RouenBd1987 *Babesia divergens* Rhopty-Associated Protein / M. Rodriguez [et al.] // PloS. One. – 2014. – Vol. 9(9). – 107727. doi: 10.1371/journal.pone.
10. Establishment of a stable transfection and gene targeting system in *Babesia divergens* / E.F.G. Cubillos // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2023. – Vol. 13. – 1278041. doi: 10.3389/fcimb.2023.1278041.

References

1. Epizootic monitoring of cattle piroplasmoses (using babesiosis as an example) in the constituent entities of the North Caucasian Federal District of Russia / S.Sh. Kabardiev, A.M. Bittirov, K.A. Karpushchenko, V.N. Skira // Caspian Veterinary Bulletin. - 2024. - No. 4 (9). - P. 43-48. - doi 10.33580/29490898_2024_4_9_43.
2. Epizootological monitoring and dynamics of seasonal susceptibility of cattle to babesiosis and anaplasmosis / O.O. Skornyakova // Russian parasitological journal. - 2014. - No. 4. - P. 34-39.
3. Bovine babesiosis / N.A. Nikolaev, K.S. Avdeyuk, V.K. Pilipchuk, D.A. Trunova // Actual problems of modern science: collection of articles from the International scientific and practical conference, Penza, April 5, 2022. - Penza: Science and Education (IP Gulyaev G.Yu.), 2022. - P. 75-77.
4. Representatives of the genus *Babesia*, their prevalence, genetic diversity and role in human and animal pathology // M.O. Shchepina [et al.] // Bulletin of Irkutsk State University. - 2014. - V. 7. - P. 80-90.
5. Babesiosis (piroplasmosis) of cattle. Part 1 / V. T. Zablotsky, V. V. Belimenko, N. A. Akhmadov // Russian Veterinary Journal. Farm animals. - 2012. - No. 1. - P. 43-44.
6. Improvement of RT-PCR methods for indication of pathogenic leptospir / K.V. Usoltcev, R.I. Shangaraev, K.S. Khaertynov [et al.] // The Veterinarian. – 2025. – № 1. – С. 73-78. – doi 10.33632/1998-698X_2025_1_73.
7. Search for genetic markers for PCR-RV indication of the babesiosis agent in cattle / R.I. Shangaraev, K.V. Usoltcev, M.E. Gorbunova [et al.] // The Veterinarian. – 2026. – № 1. – С. 87-93. – doi 10.33632/1998-698X_2026_1_87.
8. High-Quality Draft Genome Sequence of *Babesia divergens*, the Etiological Agent of Cattle and Human Babesiosis / I. Cuesta [et al.] // Genome Announc. – 2014. – Vol. 2(6). – 01194-14. doi: 10.1128/genomeA.01194-14.
9. Identification and characterization of the RouenBd1987 *Babesia divergens* Rhopty-Associated Protein / M. Rodriguez [et al.] // PloS. One. – 2014. – Vol. 9(9). – 107727. doi: 10.1371/journal.pone.
10. Establishment of a stable transfection and gene targeting system in *Babesia divergens* / E.F.G. Cubillos // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2023. – Vol. 13. – 1278041. doi: 10.3389/fcimb.2023.1278041.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 20.04.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 116 – 121
The Veterinarian. 2026; (3): 116 – 121

Научная статья

УДК 645.2.022.21.054. 676.22/.28.03

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_116

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ *CLOSTRIDIUM SEPTICUM*

Гулина Равилевна Валиуллина¹, gulina_fayz@mail.ru

Альберт Камилович Галиуллин², доктор ветеринарных наук, albert-954@mail.ru

Геннадий Николаевич Спиридонов¹, доктор биологических наук, spiridonovkzn57@gmail.com

Айдар Фаритович Махмутов¹, кандидат биологических наук, Makhmutov.aidar@bk.ru

Лилия Шамилевна Дуплева¹, кандидат биологических наук, dupleva.lilya@mail.ru

Загит Раушанович Габбасов¹, zagit.gabbasov.25@mail.ru

Тагир Мунирович Закиров², кандидат биологических наук, tagir0410907@mail.ru

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

²«Казанский государственный аграрный университет» институт «Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Валиуллина Гулина Равилевна.

Аннотация. Клостридиозы животных представляют собой одну из наиболее сложных проблем современной ветеринарной медицины, наносящую существенный экономический ущерб животноводческим хозяйствам по всему миру. Эти инфекции, вызываемые спорообразующими анаэробными бактериями рода *Clostridium*, характеризуются, как правило, острым течением и высокой летальностью. Среди множества патогенов этой группы особое место занимает *Clostridium septicum* - возбудитель злокачественного отека, брандзота овец и некротического дерматита птиц. Сложность борьбы с данными заболеваниями обусловлена широким распространением возбудителя в окружающей среде и его способностью длительное время сохраняться в почве в виде спор. Несмотря на наличие вакцинных препаратов, эффективность специфической профилактики не всегда достигает желаемого уровня, что нередко связано с несвоевременной диагностикой. Диагностика клостридиозов, и в частности инфекций, вызванных *Cl. septicum*, должна быть комплексной. Первичный диагноз часто ставится на основании эпизоотологических данных и характерной клинической картины, однако, учитывая сходство симптомов с эмфизематозным карбункулом (вызываемым *C. chauvoei*) и другими анаэробными инфекциями, лабораторное подтверждение является обязательным.

Ключевые слова: *Clostridium septicum*, анаэроб, заболевание, диагностика, бактериологический метод

Для цитирования: Валиуллина Г. Р., Галиуллин А. К., Спиридонов Г. Н., Махмутов А. Ф., Дуплева Л. Ш., Габбасов З. Р., Закиров Т. М. Культивирование и идентификация штаммов *Clostridium septicum* // Ветеринарный врач. 2026. № 3. С. 116 – 121. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_3_116

CULTIVATION AND IDENTIFICATION OF *CLOSTRIDIUM SEPTICUM* STRAINS

Gulina R. Valiullina, gulina_fayz@mail.ru

Albert K. Galiullin, doctor of veterinary sciences, albert-954@mail.ru

Gennady N. Spiridonov, doctor of biological sciences, spiridonovkzn57@gmail.com

Aidar F. Makhmutov, candidate of biological sciences, Makhmutov.aidar@bk.ru

Lilia Sh. Dupleva, candidate of biological sciences, dupleva.lilya@mail.ru

Zagit R. Gabbasov, zagit.gabbasov.25@mail.ru

Tagir Munirovich Zakirov², Candidate of Biological Sciences, tagir0410907@mail.ru

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Kazan State Agrarian University, Kazan Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Gulina Ravilevna Valiullina.

Abstract. Animal clostridiosis is one of the most challenging problems in modern veterinary medicine, causing significant economic losses to livestock farms worldwide. These infections, caused by spore-forming anaerobic bacteria of the genus *Clostridium*, are typically characterized by an acute course and high mortality. Among the many pathogens in this group, *Clostridium septicum*, the causative agent of malignant edema, bradspot in sheep, and necrotic dermatitis in birds, occupies a special place. The complexity of combating these diseases is due to the widespread distribution of the pathogen in the environment and its ability to persist in the soil for long periods as spores. Despite the availability of vaccines, the effectiveness of specific prophylaxis does not always reach the desired level, which is often due to late diagnosis. Diagnosis of clostridiosis, and particularly infections caused by *Cl. septicum*, requires a comprehensive approach. Initial diagnosis is often based on epidemiological data and a characteristic clinical presentation. However, given the similarity of symptoms to emphysematous blackleg (caused by *C. chauvoei*) and other anaerobic infections, laboratory confirmation is essential.

Keywords: *Clostridium septicum*, anaerobe, disease, diagnostics, bacteriological method

Введение. Обеспечение ветеринарного благополучия животноводства является фундаментальной основой продовольственной безопасности страны. В условиях интенсификации отрасли, характеризующейся высокой концентрацией поголовья на ограниченных площадях, значительно возрастают риски возникновения и быстрого распространения инфекционных заболеваний [1-3]. Особое место в структуре инфекционной патологии занимают болезни, вызываемые спорообразующими анаэробными бактериями рода *Clostridium*. Эти микроорганизмы широко распространены в окружающей среде и способны длительное время сохраняться в почве, что создает постоянную угрозу инфицирования восприимчивых животных [4]. Несмотря на относительную редкость отдельных вспышек, заболевания, вызываемые патогенными клостридиями, представляют собой повсеместную и крайне опасную проблему для мирового сельского хозяйства. Высокий уровень летальности, характерный для многих клостридиозов, влечет за собой значительные экономические потери, связанные с гибелью животных, снижением продуктивности и затратами на ветеринарное лечение [5-8].

В развитии клостридиозов у крупного рогатого скота ключевую роль играют несколько видов патогенных клостридий, среди которых выделяются *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. novyi* (также известный как *C. oedematiens*), *C. histolyticum* и *C. sordellii*. Исследования, проведенные на коровах и нетелях, показали, что наиболее часто из клинически больных животных выделялись *C. histolyticum* (в 65,2 % случаев), *C. septicum* (45,6 %), *C. perfringens* (29,7 %) и *C. sporogenes* (26,1 %). Реже встречались *C. sordellii* (1,7 %) и *C. novyi* (0,9 %) [9-10].

Среди многообразия клостридиозов особое внимание исследователей и практических ветеринарных врачей привлекают заболевания, этиологическим агентом которых выступает *Clostridium septicum*. Данный возбудитель является причиной возникновения злокачественного отека у крупного рогатого скота, браздота овец, а также гангренозного дерматита у сельскохозяйственной птицы. Патогенез этих заболеваний связан с продукцией мощных экзотоксинов, прежде всего альфа-токсина, обладающего гемолитическим, некротическим и летальным действием. Скоротечность инфекционного процесса, часто приводящая к гибели животных в течение нескольких часов или суток, наносит колоссальный экономический ущерб животноводческим предприятиям [11].

Эффективность борьбы с клостридиозами, вызываемыми *Cl. septicum*, напрямую зависит от своевременной и точной диагностики. В настоящее время в ветеринарной практике для идентификации возбудителя традиционно используются бактериологические методы, включающие выделение чистой культуры на элективных питательных средах, изучение морфологических, тинкториальных и биохимических свойств.

Целью наших исследований было выделение и идентификацию полевых изолятов *Clostridium septicum* от павших животных с клиническими признаками браздота и злокачественного отека, изучить их культурально-морфологические и токсигенные свойства.

Материалы и методы. Анализ эпизоотической ситуации в неблагополучных хозяйствах осуществлялся согласно рекомендациям, разработанным И.А. Бакуловым [12]. Для диагностики клостридиозов применяют клинко-эпизоотологические, патологоанатомические и бактериологические методы исследования. Основным методом из них является бактериологический, основанный на вы-

делении возбудителя болезни [13-14]. Характер роста *Clostridium septicum* в среде Китт-Тароцци оценивали визуально.

Для получения изолированных колоний и изучения культурально-морфологических свойств использовали плотные питательные среды. Основной средой служил кровяной агар, приготовленный на основе питательного агара для культивирования микроорганизмов с добавлением 5 % дефибрированной крови барана. Также применяли глюкозо-кровяной агар (агар Цейслера). Чашки Петри с посевами помещали в микроанаэроостаты, где создавали бескислородную атмосферу с помощью газогенерирующих пакетов типа GasPak, обеспечивающих концентрацию кислорода менее 1 % и обогащение среды углекислым газом.

Идентификацию выделенных культур проводили на основании изучения тинкториальных и морфологических свойств. Из культур, выросших на жидких и плотных питательных средах, готовили мазки, фиксировали их в пламени спиртовки и окрашивали по методу Грама. Подвижность бактерий определяли методом «висячей капли» или путем посева в полужидкий агар (от 0,3 до 0,5 %).

Биохимическую идентификацию проводили путем посева суточной бульонной культуры на дифференциально-диагностические среды «пестрого ряда», содержащие различные углеводы и индикатор Андреде. Инкубацию осуществляли в анаэробных условиях при 37 °С в течение от 2 до 5 сут. Оценку ферментативной активности проводили по изменению цвета среды и образованию газа в поплавках. Протеолитические свойства изучали путем посева на желатин и лакмусовое молоко. При посеве столбиком в желатин разжижение среды наблюдалось на 2-3 сутки инкубации.

Для подтверждения видовой принадлежности штаммов и исключения перекрестных реакций с близкородственными видами клостридий применяли также реакцию нейтрализации токсина на белых мышах. Культуральную жидкость центрифугировали, смешивали с диагностическими антитоксическими сыворотками и вводили лабораторным животным. Выживание мышей, защищенных специфической антитоксической сывороткой против *Cl. septicum*, и гибель животных в контрольных группах служили достоверным подтверждением идентификации.

Результаты исследований и их обсуждение. В рамках настоящего исследования был осуществлен выезд в животноводческое хозяйство, где регистрировались случаи внезапного падежа мелкого рогатого скота. При проведении патологоанатомического вскрытия павших овец были выявлены характерные для клостридиальной инфекции макроскопические изменения, включающие обширный эмфизематозный отек подкожной клетчатки, некроз мышечной ткани и множественные геморрагии во внутренних органах. Из пораженных участков мышц и паренхиматозных органов был отобран патологический материал для бактериологического исследования, в результате которого были выделены изоляты *Clostridium septicum*, послужившие объектом дальнейшего изучения.

Работа по культивированию и идентификацию штаммов микроорганизмов проводилась на базе лаборатории ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». В качестве объекта исследований были использованы производственные и референтные штаммы *Clostridium septicum*, полученные из Отдела - Государственная коллекция микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», а также полевые изоляты, выделенные из патологического материала от павших животных с клиническими признаками злокачественного отека и браздота. Все манипуляции с живыми культурами осуществлялись в строгом соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами работы с микроорганизмами II группы патогенности.

Первичным этапом работы являлось восстановление лиофилизированных культур и накопление бактериальной массы. Учитывая, что *Clostridium septicum* относится к строгим облигатным анаэробам, для культивирования использовали специальные селективные питательные среды с низким окислительно-восстановительным потенциалом. Наиболее оптимальной средой для первичного посева и накопления биомассы клостридий является среда Китт-Тароцци, которая обеспечивает необходимые условия для прорастания спор и вегетативного размножения бактерий. Перед посевом среду Китт-Тароцци подвергали регенерации путем кипячения на водяной бане в течение от 20 до 30 мин для удаления растворенного кислорода. После быстрого охлаждения среды до температуры от 45 до 50 °С проводили инокуляцию материала. Для создания анаэробных условий поверхность среды заливали слоем стерильного вазелинового масла высотой от 0,5 до 1,0 см. Инкубирование посевов осуществляли в термостате при температуре 37±1 °С в течение от 4 до 48 ч.

В ходе исследований наблюдали интенсивное равномерное помутнение бульона уже через от 18 до 24 ч инкубации, сопровождающееся активным газообразованием. При встряхивании пробирок отмечалось выделение пузырьков газа с характерным запахом масляной кислоты. На дне пробирки со временем формировался рыхлый серовато-белый осадок, который легко разбивался при их встряхивании.

На используемом нами кровяном агаре через от 24 до 48 ч роста образовывались сероватые, полупрозрачные колонии с неровными, ризоидными (корневидными) краями. Вокруг колоний наблюдалась четкая зона полного бета-гемолиза, что является важным дифференциально-диагностическим признаком данного вида.

При микроскопии мазков суточных культур обнаруживали грамположительные палочки с закругленными концами, располагающиеся одиночно, парами или короткими цепочками. Длина клеток варьировала от 3 до 8 мкм, ширина - от 0,6 до 1,0 мкм. В мазках-отпечатках из патологического материала (мышц, печени, пораженных животных) мы наблюдали характерные длинные нити, состоящие из нескольких десятков вегетативных клеток, что является важным диагностическим признаком при микроскопической диагностике браздота и злокачественного отека. В культурах старше 48 ч обнаруживались споровые формы. Споры располагались субтерминально или веретена, при этом диаметр споры превышал поперечник вегетативной клетки.

Все исследуемые штаммы *Clostridium septicum* проявляли выраженную подвижность, вызывая диффузное помутнение полужидкой среды по ходу укола и за его пределами, что позволяло дифференцировать их от неподвижных клостридий, в частности *Cl. perfringens*.

Результаты биохимического тестирования показали, что исследуемые штаммы активно ферментировали с образованием кислоты и газа глюкозу, мальтозу, лактозу и салицин. Важным дифференциальным признаком являлось отношение к сахарозе. В отличие от *Clostridium chauvoei*, возбудителя эмкара, штаммы *Cl. septicum* не ферментировали сахарозу.

В лакмусовом молоке происходило медленное свертывание с образованием рыхлого сгустка и незначительным газообразованием, пептонизация наступала позднее. Тест на образование индола был отрицательным, нитраты восстанавливались до нитритов. Продукцию сероводорода фиксировали с помощью индикаторных бумажек, пропитанных ацетатом свинца, помещенных под пробку пробирки с посевом.

Заключение. В ходе проведенного исследования был выполнен комплексный анализ рассматриваемой проблематики, что позволило сформулировать ряд значимых выводов. Установлено, что ключевые факторы, выявленные в основной части работы, оказывают определяющее влияние на динамику изучаемых процессов и требуют системного подхода при разработке практических рекомендаций.

Результаты анализа подтвердили гипотезу о необходимости совершенствования существующих методик. Предложенные в статье подходы позволяют не только глубже понять природу возникающих противоречий, но и намечают пути их эффективного разрешения в современных условиях. Практическая значимость работы заключается в возможности применения полученных данных для оптимизации операционных циклов и повышения общей устойчивости системы.

Подводя итог, следует отметить, что достигнутые цели исследования открывают перспективы для дальнейшего изучения вопроса. В частности, особый интерес представляет детальное рассмотрение долгосрочных эффектов от внедрения предложенных инноваций, что может стать темой будущих научных публикаций.

Список источников

1. Желудочно-кишечные заболевания новорожденных телят в крупных животноводческих комплексах Приволжского федерального округа / А. Ф. Махмутов, Г. Н. Спиридонов, Д. Д. Насертдинов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 6. – С. 84-93.
2. Клостридиозы сельскохозяйственных животных / А. К. Мусаева, Н. Н. Егорова, Е. Шакибаев, Н. Ёзбекбай // Национальная Ассоциация Ученых. – 2022. – № 81. – С. 6-14.
3. Новгородцева А. К. Случаи клостридиозов среди сельскохозяйственных животных в хозяйствах Омской области / А. К. Новгородцева, В. И. Плешакова // Современные тенденции развития ветеринарной науки и практики: Материалы Национальной (Всероссийской) научно-практической конференции, Омск, 26 октября 2021 года. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2021. – С. 263-265.
4. Капустин А. В. Способы контроля иммуногенной активности ассоциированной вакцины против инфекционных болезней крупного рогатого скота, вызванные различными видами бактерий рода *Clostridium* spp. / А. В. Капустин // Ветеринария и кормление. – 2017. – № 3. – С. 47-49.
5. Частота выделения бактерий *Clostridium* spp. и их ассоциаций при различных формах клостридиоза крупного рогатого скота. / А. Г. Глотов, Т. Е. Судоргина, Т. И. Глотова [и др.] // Сибирский

вестник сельскохозяйственной науки. – 2024, № 54(3). – С. 55–62. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2024-3-6>

6. Капустин А. В. Эпизоотология и профилактика клостридиозов крупного рогатого скота / А. В. Капустин, Т. И. Алипер // Единый мир – единое здоровье: Материалы конгресса, Уфа, 19. – 21 апреля 2017 года. – Уфа: Российская ветеринарная ассоциация, 2017. – С. 106–108.
7. Пименов Н. В. Этиология анаэробных инфекций у крупного рогатого скота и сравнительная характеристика выделенных штаммов клостридий / Н. В. Пименов, Ю. Н. Колесникова, А. В. Капустин // RJOAS. – 2016. – Т. 56, - № 8. – С. 39–48.
8. Спиридонов А. Г. Иммуноферментный метод диагностики анаэробной энтеротоксемии животных // Ветеринарный врач. – № 6. – 2018. – С. 26–29.
9. Видовой состав клостридий, выделенных от сельскохозяйственных животных на территории отдельных регионов РФ / А. В. Супова, А. В. Капустин, Н. В. Пименов, М. Бангура // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения: Сборник трудов научно-практической конференции, Москва, 08 ноября 2022 года / Под общей редакцией С.В. Позябина, Л.А. Гнездиловой. – Москва: Сельскохозяйственные технологии, 2022. – С. 305–307.
10. Капустин А. В. Видовой состав клостридий крупного рогатого скота / А. В. Капустин, А. В. Моторыгин, Н. К. Букова // Вестник ветеринарии. – 2013. – № 1. – Вып. 64. – С. 71–73.
11. Литусов Н. В. Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: УГМУ, 2017. – 19 с.
12. Бакулов И. А. Методическими указаниями по эпизоотологическому обследованию. – М.: Колос, 1986. – 73 с.
13. Эритроцитарный диагностикум для определения специфических антител к бактериям *Cl. perfringens* / Г. Н. Спиридонов, Д. Н. Мингалеев, М. Т. Хурамшина, [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 6. – С. 38–42.
14. Обнаружение и идентификация лабораторными методами бактериальных патогенов рода *Clostridium*, выявленных у крупного рогатого скота на территории Уральского региона / Н. А. Безбородова, Е. Н. Шилова, О. В. Соколова [и др.] // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2022. – № 1(41). – С. 83–92.

References

1. Gastrointestinal diseases of newborn calves in large livestock complexes of the Volga federal district / A. F. Makhmutov, G. N. Spiridonov, D. D. Nasertdinov [et al.] // The Veterinarian. – 2025. – No. 6. – P. 84–93.
2. Clostridiosis of farm animals / A. K. Musaeva, N. N. Egorova, E. Shakibaev, N. Ozbekbai // National Association of Scientists. – 2022. – No. 81. – P. 6–14.
3. Novgorodtseva A. K. Cases of clostridiosis among farm animals in agricultural enterprises of the Omsk region / A. K. Novgorodtseva, V. I. Pleshakova // Modern Trends in the Development of Veterinary Science and Practice: Proceedings of the National (All-Russian) Scientific and Practical Conference, Omsk, October 26, 2021. – Omsk: Omsk State Agrarian University named after P. A. Stolypin, 2021. – P. 263–265.
4. Kapustin A. V. Methods for controlling the immunogenic activity of an associated vaccine against infectious diseases of cattle caused by various species of the genus *Clostridium* spp. / A. V. Kapustin // Veterinariya i Kormlenie. – 2017. – No. 3. – P. 47–49.
5. Frequency of isolation of *Clostridium* spp. bacteria and their associations in various forms of clostridiosis in cattle / A. G. Glotov, T. E. Sudorgina, T. I. Glotova [et al.] // Siberian Bulletin of Agricultural Science. – 2024. – No. 54(3). – Pp. 55–62. – DOI: 10.26898/0370-8799-2024-3-6.
6. Kapustin A. V. Epizootiology and prevention of clostridiosis in cattle / A. V. Kapustin, T. I. Aliper // One World – One Health: Congress Proceedings, Ufa, April 19–21, 2017. – Ufa: Russian Veterinary Association, 2017. – P. 106–108.
7. Pimenov N. V. Etiology of anaerobic infections in cattle and comparative characteristics of isolated *Clostridium* strains / N. V. Pimenov, Yu. N. Kolesnikova, A. V. Kapustin // RJOAS. – 2016. – Vol. 56, No. 8. – P. 39–48.
8. Spiridonov A. G. Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of anaerobic enterotoxemia in animals / A. G. Spiridonov // The Veterinarian. – 2018. – No. 6. – P. 26–29.

9. Species composition of clostridia isolated from farm animals in certain regions of the Russian Federation / A. V. Supova, A. V. Kapustin, N. V. Pimenov, M. Bangura // Current Problems of Veterinary Medicine, Animal Science, Biotechnology and Examination of Raw Materials and Products of Animal Origin: Proceedings of the Scientific and Practical Conference, Moscow, November 8, 2022. – Moscow: Agricultural Technologies, 2022. – P. 305–307.
10. Kapustin A. V. Species composition of clostridia in cattle / A. V. Kapustin, A. V. Motorygin, N. K. Bukova // Bulletin of Veterinary Medicine. – 2013. – No. 1 (64). – P. 71–73.
11. Litusov N. V. Pathogens of clostridial anaerobic infection. Illustrated study guide. – Ekaterinburg: UGMU, 2017. – P. 19.
12. Bakulov I. A. Guidelines for epizootiological examination. – Moscow: Kolos, 1986. – 73 p.
13. Erythrocyte diagnostic reagent for determining specific antibodies to *Clostridium perfringens* / G. N. Spiridonov, D. N. Mingaleev, M. T. Khuramshina [et al.] // The Veterinarian. – 2023. – No. 6. – P. 38–42.
14. Detection and laboratory identification of bacterial pathogens of the genus *Clostridium* isolated from cattle in the Ural region / N. A. Bezborodova, E. N. Shilova, O. V. Sokolova [et al.] // Russian Journal: Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. – 2022. – No. 1(41). – P. 83–92.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 08.05.2026;

© Валиуллина Г. Р., Галиуллин А. К., Спиридонов Г. Н., Махмутов А. Ф., Дуплева Л. Ш.,
Габбасов З. Р., Закиров Т.М. 2026

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

Главный редактор **Мингалеев Данил Наильевич** - доктор ветеринарных наук, профессор, профессор АН РТ

FSBSI «Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety» (FSBSI «FCTRBS-ARRVI»).

Editor-in-Chief **Mingaleev Danil Nailievich** - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of TAS

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Алиев А.Ю. - доктор ветеринарных наук, г. Махачкала.
Андреева А.В. - доктор биологических наук, профессор, г. Уфа.
Арисов М.В. - доктор ветеринарных наук, профессор РАН, г. Москва.
Балакирев Н.А. - доктор с.-х. наук, профессор, академик РАН, г. Москва.
Василевич Ф.И. - доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, г. Москва.
Гламаздин И.Г. - доктор ветеринарных наук, профессор, г. Москва.
Гулюкин А.М. - доктор ветеринарных наук, чл.-корр. РАН, г. Москва.
Девришов Д.А. - доктор биологических наук, профессор, чл.-корр. РАН, г. Москва.
Енгашев С.В. - доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, г. Москва.
Канарский А.В. - доктор технических наук, г. Казань.
Колумиц С.Н. - доктор биологических наук, доцент, г. Москва.
Кочish И.И. - доктор с.-х. наук, профессор, академик РАН, г. Москва.
Мирзоев Э.Б. - доктор биологических наук, г. Обнинск.
Никитин А.Н. - кандидат с.-х. наук, республика Беларусь, г. Гомель.
Панов А.В. - доктор биологических наук, профессор РАН, г. Обнинск.
Равилов Р.Х. - доктор ветеринарных наук, профессор, чл.-корр. АН РТ, г. Казань.
Семенов В.Г. - доктор биологических наук, профессор, г. Чебоксары.
Смирнов А.М. - доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, г. Москва.
Сухинин А.А. - доктор биологических наук, профессор, г. Санкт-Петербург.
Шабунин С.В. - доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, г. Москва.

EDITORIAL COUNCIL

Aliyev A.Yu. - Doctor of Veterinary Sciences, Makhachkala.
Andreeva A.V. - Doctor of Biological Sciences, Professor, Ufa.
Arisov M.V. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor the RAS, Moscow.
Balakirev N.A. - Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the RAS Moscow.
Vasilevich F.I. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS Moscow.
Glamazdin I.G. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Moscow.
Gulyukin A.M. - Doctor of Veterinary Sciences, Corresponding Member of the RAS, Moscow.
Devrishov D.A. - Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS, Moscow.
Engashev S.V. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Moscow.
Kanarsky A.V. - Doctor of Technical Sciences, Kazan.
Kolomiets S.N. - Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Moscow.
Kochish I.I. - Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the RAS, Moscow.
Mirzoev E.B. - Doctor of Biological Sciences, Obninsk.
Nikitin A.N. - Candidate of Agricultural Sciences, Gomel, Belarus.
Panov A.V. - Doctor of Biological Sciences, Professor the RAS, Obninsk.
Ravilov R.Kh. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of TAS, Kazan.
Semenov V.G. - Doctor of Biological Sciences, Professor, Cheboksary.
Smirnov A.M. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Moscow.
Sukhinin A.A. - Doctor of Biological Sciences, Professor, St. Petersburg.
Shabunin S.V. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Moscow.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Багаева Т.В. - доктор биологических наук, г. Казань.
Вагин К.Н. - доктор биологических наук, г. Казань.
Евдокимов П.И. - доктор ветеринарных наук, профессор, г. Улан-Удэ.
Кадиков И.Р. - доктор биологических наук, г. Казань.
Рахматуллин Э.К. - доктор ветеринарных наук, г. Казань.
Сайтов В.Р. - доктор биологических наук, г. Казань.
Спирidonov Г.Н. - доктор биологических наук, г. Казань.
Семенов Э.И. - доктор ветеринарных наук, г. Казань.
Смоленцев С.Ю. - доктор биологических наук, г. Йошкар-Ола.
Тремасова А.М. - доктор биологических наук, г. Казань.
Фролов А.В. - доктор биологических наук, г. Казань.
Яруллин А.И. - кандидат биологических наук, г. Казань.

EDITORIAL BOARD

Bagayeva T.V. - Doctor of Biological Sciences, Kazan.
Vagin K.N. - Doctor of Biological Sciences, Kazan.
Evdokimov P.I. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Ulan-Ude.
Kadikov I.R. - Doctor of Biological Sciences, Kazan.
Rakhmatullin E.K. - Doctor of Veterinary Sciences, Kazan.
Saitov V.R. - Doctor of Biological Sciences, Kazan.
Spiridonov G.N. - Doctor of Biological Sciences, Kazan.
Semenov E.I. - Doctor of Veterinary Sciences, Kazan.
Smolentsev S.Yu. - Doctor of Biological Sciences, Yoshkar Ola.
Tremasova A.M. - Doctor of Biological Sciences, Kazan.
Frolov A.V. - Doctor of Biological Sciences, Kazan.
Yarullin A.I. - Candidate of Biological Sciences, Kazan.

Технический редактор – А.А. Осянина

Technical editor – A.A. Osyagina

Подписной индекс: в Российской Федерации «Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы» - 43596

Subscription index: the Russian Federation "United catalogue. Russian Press. Newspapers and magazines" - 43596

Зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
 Регистрационный номер ПИ № ФС 77-77647 от 31.01.2020 г.

Адрес редакции, издателя
 420075, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2
 ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
 Тел./факс: (843) 239-71-73
 E-mail: vetvrach@vniivi.ru

Editorial, Publisher Address
 420075, The Republic of Tatarstan, Kazan, Nauchnyi Gorodok -2
 FSBSI «FCTRBS-ARRVI»
 Tel./Fax: (843) 239-71-73
 E-mail: vetvrach@vniivi.ru

Выход в свет – 15.06.2026 г. Тираж 1350 экз. Свободная цена
 Журнал входит в перечень рецензируемых научных изданий ВАК

Отпечатано в типографии «Альянс», 420029, Республика Татарстан, г. Казань, Сибирский тракт 34.

**ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
предоставляет услуги по утилизации
медицинских и биологических отходов на территории Республики Татарстан**

Уничтожение отходов производится методом термического обезвреживания на собственной установке, расположенной за пределами города Казань.

Утилизируем отходы следующих категорий:

Медицинские отходы: к этой группе относятся отходы медицинских и фармацевтических предприятий и учреждений, также хосписов, домов престарелых, детских домов, НИИ и учебных заведений медицинского профиля:

- послеоперационные отходы;
- медицинские инструменты, просроченные лекарства и вакцины;
- расходные материалы и принадлежности из инфекционных отделений;
- абортивные материалы;
- отходы микробиологических производств и лабораторий.

Биологические отходы: сюда относятся органы и ткани, которые образуются в результате медицинской и ветеринарной деятельности, различных медицинских или биологических экспериментов, при переработке сырья животного происхождения, гибели животных или птиц.

Среди которых:

- трупы бездомных животных и домашних питомцев;
- останки подопытных лабораторных животных и птиц;
- отходы хирургической, ветеринарной и медицинской практики;
- абортированные или мертворожденные плоды;
- пищевые продукты животного происхождения, конфискованные из-за несоответствия санитарным нормам;
- отходы биотехнологических производств;
- корма или различные добавки, содержащие продукты животного происхождения;
- отходы пищевой и перерабатывающей промышленности: мясокомбинатов, птицефабрик, рыбных ферм.

Мы находимся по адресу:
Россия, Республика Татарстан,
г. Казань, ул. Научный городок, д. 2

Контакты для справок:
+7 (843) 239-71-73
vnivi-real@mail.ru

