

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ВРАЧ

№ 2 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

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

- Баймухаметов Ф. З., Семёнов Э. И., Ермолаева О. К., Идрисова Э. И., Яруллин А. И.**
Изучение противогрибкового действия комплексобразователей в составе антибиотиков на рост *Candida tropicalis* 5
- Гиззатуллин Р. Р., Гиззатуллина Р. Р., Муллакаев О. Т., Садыков Н. Ф., Низамова Г. М., Закиров Т. М., Тимербаева Р. Р.** Профилактическая эффективность лекарственного средства «К-55» при эймериозе индеек 10
- Куршакова Е. И., Кадиков И. Р., Сагдеев Д. Р., Рахматуллин Э. К., Вафин И. Ф., Майорова Е. Н., Корчемкин А. А.** Эффективность натрия сульфида и производных фумаровой кислоты при контаминации кормов токсичными элементами 16
- Мишина Н. Н., Матросова Л. Е., Софронова А. В., Ермолаева О. К., Танасева С. А., Идрисова Э. И., Ерохондина М. А.** Влияние антитоксической сыворотки на микрофлору кишечника белых крыс при воздействии токсинов *Fusarium* 22
- Саматова А. А., Мухарлямова А. З., Шлямина О. В., Ахметзянова Г. Ф., Галлямова М. Ю.** Оценка соответствия зерновых культур требованию технического регламента таможенного союза «О безопасности зерна» 27
- Семёнов Э. И., Мишина Н. Н., Возняковский А. А., Валиев А. Р., Вафин Ф. Р., Софронова А. В., Коваль И. М.** Влияние малослойного графена на массу тела и гематологические показатели крови при экспериментальном фузариотоксикозе белых крыс 34
- Танасева С. А., Матросова Л. Е., Домбровский В. О., Ермолаева О. К., Софронова А. В., Ерохондина М. А., Идрисова Э. И.** Влияние кормовой добавки «Гепатопротект» на продуктивность и мясные качества цыплят-бройлеров при афлатоксикозе 40
- Халикова К. Ф., Матросова Л. Е., Ямалова Г. Р., Алеев Д. В., Маланьев А. В., Галяутдинова Г. Г., Егоров В. И.** Анализ кишечного биоценоза белых крыс при интоксикации клотианидином и использовании фармакологических средств 46
- Халикова К. Ф., Ямалова Г. Р., Егоров В. И., Маланьев А. В., Алеев Д. В., Исанькин А. В., Василевский Н. М.** Изучение эффективности антитоксических веществ при интоксикации животных глифосатом 52

САНИТАРИЯ, ГИГИЕНА, ЭКОЛОГИЯ, ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ

- Гирфанов А. И., Бозова Г. Б., Шлямина О. В., Семёнова С. А., Майорова А. А., Саматова А. А., Майорова Е. Н.** Ассортимент и оценка качества сыров отечественного производства 57
- Минькова О. А., Башарова А. Р., Денисенко Т. Е., Метла А. А.** Влияние температурного режима хранения на микробиологическую безопасность пастеризованных мясных консервов 65
- Саматова А. А., Мухарлямова А. З., Шлямина О. В., Галлямова М. Ю., Трофимова А. С.** Сравнительная оценка показателей безопасности полуфабрикатов из мяса птицы 72

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

- Галеева А. Г., Ахунова А. Р., Кузнецова Ю. А., Ахмадеев Р. М., Самерханов И. И., Алеева З. З., Яруллина Г. М.** Иммунобиологическая характеристика рекомбинантных аналогов капсидного белка цирковируса свиней 2-го типа 77

- Данников С. П., Шахова В. Н., Гвоздецкий Н. А.** Иммунопрофилактика калицивируса кошек 85
- Осянин К. А., Косарев М. А., Горбунова М. Е., Додонова Е. А., Шангараев Р. И., Панкова Е. В., Громова Е. А.** Разработка ПЦР-РВ тест-системы «BRUCELLA RT» для дифференциальной индикации возбудителей бруцеллеза *B. abortus* и *B. melitensis* 92
- Усов А. Л., Усольцев К. В., Шангараев Р. И., Горбунова М. Е., Ефимова М. А., Плотникова Э. М., Хамидуллина А. И.** Идентификация генома ротавируса типа А у свиней с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени 99

ПАЗАРИТОЛОГИЯ

- Беспалова Н. С.** Эпизоотическая ситуация по инвазионным болезням кроликов на территории Российской Федерации 106
- Шангараев Р. И., Усольцев К. В., Горбунова М. Е., Осянин К. А., Идрисов А. М., Мухаммадиев Риш. С., Хаммадов Н. И.** Поиск генетических маркеров для ПЦР-РВ индикации возбудителя бабезиоза собак 113

БИОТЕХНОЛОГИЯ

- Азарнова Т. О., Ерхова К. А., Индюхова Е. Н.** Роль никотинамидадениндинуклеотида в системе повышения витального потенциала молодняка кур 119
- Каримуллина И. Г., Яруллин А. И., Мухаммадиев Рин. С., Мухаммадиев Риш. С., Хусаннова Г. И., Фазулзянов И. Р., Шеметюк С. А.** Определение оптимальных биотехнологических параметров культивирования штаммов вируса парагриппа-3 крупного рогатого скота 125
- Самойленко В. С., Лапина А. А., Подставкаина С. Д.** Контроль генетической целостности рекомбинантной плазмиды с моно- и коэкспрессией целевых генетических конструкций placdual10/il22 методом секвенирования по сэнгеру 136

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 5 – 9
The Veterinarian. 2026; (2): 5 – 9

Научная статья
УДК 615:615.3:615.9:616.98.852.13
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_5

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОГО ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАТЕЛЕЙ В СОСТАВЕ АНТИБИОТИКОВ НА РОСТ *CANDIDA TROPICALIS*

Фаниль Заудятович Баймухаметов, кандидат химических наук, sun-terra@mail.ru
Эдуард Ильясевич Семёнов, доктор ветеринарных наук, semyonovei@bk.ru
Ольга Константиновна Ермолаева, кандидат биологических наук, ermolao@list.ru
Элина Ильгизовна Идрисова, elina.idrisova82@mail.ru
Айнур Ильнурович Яруллин, кандидат биологических наук, abii@mail.ru

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

Автор, ответственный за переписку: Фаниль Заудятович Баймухаметов.

Аннотация. Грибки входят в состав нормальной микрофлоры животных, но при определённых условиях, таких как снижение иммунитета, бесконтрольное применение антибиотиков или наличие других заболеваний, они могут начать активно размножаться, вызывая заболевание. Кандидоз у животных распространён повсеместно. Кандидозы - грибковые заболевания, протекают с поражением кожи, слизистых оболочек, пищеварительного тракта, половых органов и слуховых проходов. В крайне редких случаях в процесс могут вовлекаться внутренние органы. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности уделяет большое внимание изучению активности микроорганизмов, вызывающих заболевания животных. Кандидоз лечат противогрибковыми препаратами. Новой задачей является поиск компонентов антибиотических средств в борьбе с развивающейся резистентностью микроорганизмов. Представлялось интересным изучить механизм действия β -лактамных антибиотиков, а также формирование резистентности микроорганизмов, связанной с инактивацией ферментов металло-бета-лактамаз (МБЛМ), необходимых для синтеза клеточной стенки микроорганизмов в присутствии веществ комплексообразователей в составе антибиотиков. Анализ полученных результатов позволил оценить вклад комплексообразователей в процесс уменьшения резистентности и усиления активности антибиотиков и позволило сделать вывод, что комплексообразователи именно с большой молекулярной массой способны оказывать ингибирующие свойства.

Ключевые слова: бета-лактамные антибиотики, *Aspergillus fumigatus*, *Candida tropicalis*, комплексы Zn, комплексообразователи.

Для цитирования: Баймухаметов Ф. З., Семёнов Э. И., Ермолаева О. К., Идрисова Э. И., Яруллин А. И. Изучение противогрибкового действия комплексообразователей в составе антибиотиков на рост *Candida tropicalis* // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 5 – 9. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_5

STUDY OF THE ANTIFUNGAL EFFECT OF COMPLEXING AGENTS IN ANTIBIOTICS ON THE GROWTH OF *CANDIDA TROPICALIS*

Fanil Z. Baymookhametov, candidate of chemical sciences, sun-terra@mail.ru
Eduard I. Semenov, doctor of veterinary sciences, semyonovei@bk.ru
Olga K. Ermolaeva, candidate of biological sciences, ermolao@list.ru
Elina I. Idrisova, elina.idrisova82@mail.ru
Ainur I. Iarullin, кандидат биологических наук, abii@mail.ru

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

Corresponding author: Fanil Zaudyatovich Baymookhametov.

Abstract. Fungi are part of the normal microflora of animals, but under certain conditions, such as weakened immunity, uncontrolled use of antibiotics, or the presence of other diseases, they can begin to actively multiply, causing disease. Candidiasis is a common condition in animals. Candidiasis is a fungal infection that affects the skin, mucous membranes, gastrointestinal tract, genitals, and ear canals. In extremely rare cases, internal organs may be involved. The Federal Center for Toxicology, Radiation, and Biological Safety devotes considerable attention to studying the activity of microorganisms that cause animal diseases. Candidiasis is treated with antifungal drugs. A new challenge is identifying antibiotic components to combat developing microbial resistance. It was of interest to study the mechanism of action of β -lactam antibiotics, as well as the development of microbial resistance associated with the inactivation of metallo-beta-lactamase enzymes, which are necessary for microbial cell wall synthesis, in the presence of complexing agents contained in antibiotics. Analysis of the obtained results allowed us to evaluate the contribution of complexing agents to the reduction of resistance and enhancement of antibiotic activity, leading to the conclusion that complexing agents with high molecular weights are capable of exerting inhibitory properties.

Keywords: beta-lactam antibiotics, *Aspergillus fumigatus*, *Candida tropicalis*, Zn complexes, complexing agents

Введение. *Candida tropicalis* – вид дрожжей рода *Candida*, распространённый патоген, может распространяться через кровоток в периферические органы, проявляет диморфизм, образуя одноклеточные дрожжи или так называемые бластоконидии, которые размножаются простым почкованием. *C. tropicalis* размножается бесполым путём, образуя бластоконидии путём почкования. По мере увеличения числа бластоконидий они могут удлиняться, образуя структуры, называемые псевдогифами. Гифа состоит из одной или нескольких клеток, окружённых трубчатой клеточной стенкой. Основным структурным полимером клеточных стенок грибов обычно является хитин, в отличие от растений и оомицетов, у которых клеточные стенки целлюлозные [1]. Грибки являются частью нормальной микрофлоры животных, но при определенных условиях, таких как снижение иммунитета, бесконтрольное применение антибиотиков или наличие других заболеваний, кандиды могут начать активно размножаться, вызывая болезнь. Кандидоз – грибковое заболевание, протекающее с поражением кожи, слизистых оболочек ротовой полости, пищеварительного тракта, половых органов и слуховых проходов, кандидозы животных широко распространены. В крайне редких случаях в процесс могут быть вовлечены внутренние органы [2,3].

Изучению активности микроорганизмов, приводящих к заболеваниям животных в ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» уделяют огромное внимание [4, 5], разрабатывая комплексные подходы по профилактике и лечению [6, 7]. Кандидоз лечат противогрибковыми препаратами. Противогрибковые препараты выпускаются в разных формах: кремы, пероральные гели, таблетки или препараты для внутривенного введения. Вид противогрибкового препарата, доза и продолжительность лечения зависят от типа и тяжести инфекции, а также общего состояния здоровья. Инфекция успешно приспосабливается к используемым антибиотикам. Длительное применение антибиотиков в ветеринарии способствовало появлению многочисленных штаммов микроорганизмов, устойчивых к их действию. Эта резистентность обусловлена рядом механизмов: модификацией молекулярных мишеней антибиотиков, нарушением экспрессии и структуры пориновых каналов, активным выведением препаратов из клетки, а также ферментативной инактивацией — в частности, за счёт β -лактамаз. Эти ферменты, продуцируемые бактериями, разрушают β -лактамное кольцо, тем самым нейтрализуя действие β -лактамных антибиотиков. В связи с этим возникла новая задача — поиск компонентов, способных преодолевать или подавлять растущую устойчивость микроорганизмов к антибиотикам. В нашей работе представлялось интересным изучить механизм действия β -лактамных антибиотиков, а также формирование резистентности микроорганизмов, связанной с инактивацией ферментов, необходимых для синтеза клеточной стенки болезнетворных микроорганизмов [8]. Однако, как упоминалось выше, структурным полимером клеточных стенок грибов обычно является хитин. Поэтому ожидалось, что будут существенные различия в восприимчивости *C. Tropicalis* по отношению к исследуемым в опыте препаратам на основе β -лактамных антибиотиков с добавками синтетических ингибиторов металло β -лактамаз (ИМБЛМ) в форме комплексообразующих агентов металлов, в частности, по отношению к цинку, используя проверенные устойчивые комплексоны.

В данной работе были поставлены следующие задачи:

1. Проведение испытания «*in vitro*» для оценки активности действия составов комплексообразователей ИМБЛМ с различными антибиотиками на тест культурах грибов (*Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus*) и проверки их устойчивости в составе смеси (окисляемости антибиотика).

2. Оценка уровня воздействия, измерение зон задержки роста.

Обоснование выбора компонентов ИМБЛМ был описан в работе [8], в которой упор сделан на комплексообразующих свойствах ионов цинка β -лактамаз.

Материалы и методы. Сбор и интерпретация результатов исследования осуществлялись на базе лаборатории микотоксинов ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» в 2025 году проведены, согласно руководству 4.2.3676-20 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфицирующих средств для оценки их эффективности и безопасности» [9]. В работе были использованы тест культуры грибов *Aspergillus fumigatus*, *Candida tropicalis*. Антибиотики использованы в разведении до 10 кратной эффективной концентрации в физиологическом растворе. Стехиометрическое эквимольное количество комплексообразователя добавлялось к раствору антибиотика в соотношении две молекулы, из расчета на два активных центра атома цинка металло β -лактамаз, к 1 молекуле антибиотика, до полного образования гомогенных прозрачных растворов, которые затем наносились на пропитываемые диски в исследуемых средах микроорганизмов на питательной среде агара. Результаты взяты с учетом стандартного отклонения.

Результаты исследований и их обсуждение. Используя коммерческие антибиотики бензилпенициллин, цефтиофур, амоксициллин получены противоречивые результаты. Проведено испытание 14 проб, экспериментальных образцов, содержащих различные соотношения концентраций основного антибиотика и ИМБЛМ для испытания «*in vitro*» (таблица 1).

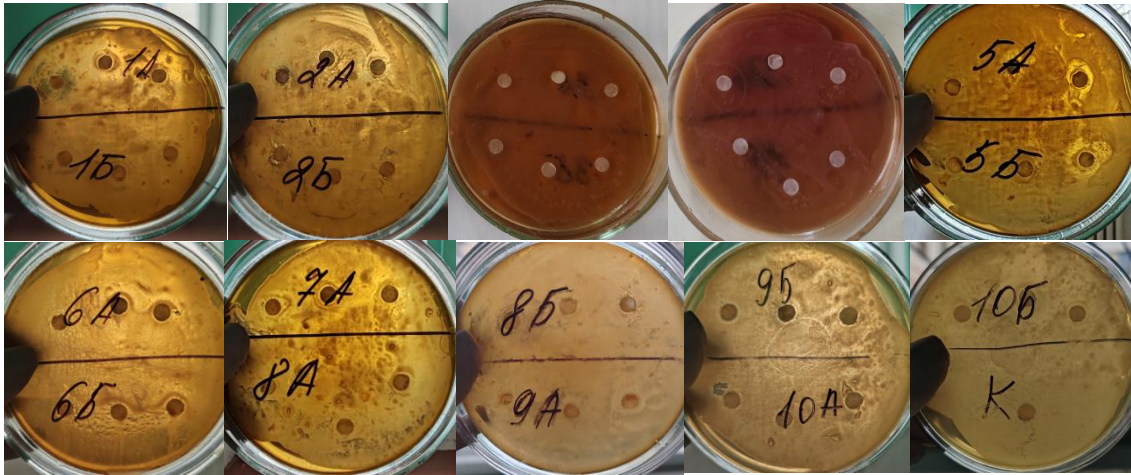
Таблица 1 – Состав исследуемых препаратов и данные подавления роста микроорганизмов

№ препарата	Состав, концентрация, мг/мл	Диаметр зон задержки роста, мм
1	Бензилпенициллин (БП) (кристалл.) 20 мг/мл этилендиамин-тетрауксусная кислота (ЭДТА) (кристалл.) + 30 мг/мл в физиологическом растворе 1мл	7
2	БП 20 мг/мл в физ. р-ре 1мл	6
3	Цефтиофур (ЦФ) 10 мг/мл + ЭДТА 10 мг/мл в физ. р-ре 1мл	7
4	ЦФ 10 мг/мл в физ. р-ре 1мл	6
5	Амоксициллин (АЦ) 10 мг/мл + ЭДТА 10 мг/мл в физ. р-ре 1мл	10
6	АЦ 10 мг/мл в физ. р-ре 1мл	10
7	БП 20 мг/мл + тартрат натрия калия (ТНК) 30 мг	11
8	ЦФ 10 мг/мл + 10 мг ТНК в физ. р-ре 1мл	9
9	АЦ 10 мг/мл + 15 мг/мл ТНК в физ. р-ре 1мл	6
10	Аналог 10 мг/мл амоксициллина - клавуленовая кислота (амоксиклав) в физ. р-ре 1мл	6
11	БП 2 мг/мл + золедроновая кислота (ЗК), 1 мг в физ. р-ре 1мл	-
12	БП 2 мг/мл в физ. р-ре 1мл	-
13	ЦФ 10 мг/мл + ЗК 1 мг/мл в физ. р-ре 1мл	-
14	АЦ 10 мг/мл + ЗК 1 мг/мл в физ. р-ре 1мл	-

Анализ полученных результатов «*in vitro*» позволил оценить вклад исследуемых ингибиторов в процесс уменьшения резистентности и усиления активности антибиотиков. Тест культура *Candida tropicalis* наиболее чувствительна к образцам № 2,7 зона задержки- 11 мм, а также № 5, 6, 8, зона задержки составила 9-10 мм. Тест культура *Aspergillus fumigatus* показала отсутствие чувствительности к данным препаратам и зон задержки роста не обнаружено. Учитывая тот факт, что металло-бета-лактамазы, в основном, являются бактериальными ферментами и не продуцируются дрожжеподоб-

ными грибами и микромицетами, полученные результаты позволяют предположить, что роль комплексообразователя заключена не в ингибировании расщепления бета-лактамного цикла, а в ином механизме, включающем блокирование действия группировок с активными биологическими (поверхностно расположенными) металлами или их переноса в растворе, что может потребовать дальнейшего изучения.

Рисунок 1 – Результаты испытания проб *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus* с целью определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузным методом на агаре. Фото чашек Петри с зонами активного ингибирования (3А, 4А, 5А) в сравнение с контролем (3Б, 4Б, 5Б)



Заключение. Активными по отношению к *Candida tropicalis* оказались все приготовленные препараты на основе бензилпенициллина, амоксициллина и цефтиофура. При этом добавление комплексообразующего агента (ЭДТА) усиливает антибиотические свойства в полтора раза (растворы 1,3), кроме смеси с амоксициллином (раствор 5), эффективность действия которого при этом не снижается. Аналогично не влияет на активность действие тартрата натрия калия (раствор 7, 9). Действие тартрата (раствор 8) на цефтиофур, однако, снижает эффективность антибиотика. Эффективность амоксиклава оказалась соразмерна действию амоксициклину (растворы 8-10), т.е. добавка клавуленовой кислоты не оказала влияния на рост *Candida tropicalis*. Таким образом можно сделать вывод, что комплексообразователи с большой молекулярной массой способны оказывать ингибирующие свойства на рост *Candida tropicalis*.

Список источников

1. Гасретова Т.Д., Тюкавкина С.Ю., Харсеева Кандидоз. микробиологическая диагностика кандидоза // Учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей-бактериологов / Ростов-на-Дону, 2010
2. Шевяков М.А Диагностика и лечение кандидоза кишечника // Терапевтический архив. 2003. Т. 75. № 11. С. 77-78.
3. Бажукова Т.А. Этиологическая значимость грибов рода *Candida* при гнойно-септических заболеваниях // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1997. № 3. С. 101-102.
4. Чулков А.К., Иванов А.В., Семёнов Э.И., Матросова Л.Е. Проблема микотоксикозов при завозе и адаптации импортируемого скота // Ветеринарный врач. 2007. № 5. С. 56.
5. Тремасов М.Я., Иванов А.В., Папуниди К.Х., Семёнов Э.И. Проблема микотоксикозов животных // Ветеринарный врач. 2010. № 5. С. 16-19.
6. Тремасов М.Я., Семенов Э.И., Танасева С.А., Коростелева В.П., Тремасов Ю.М. Проблемы микотоксикозов в российской федерации //В сборнике: Товароведение и экспертиза, производство пищевых и кормовых продуктов, обеспечение их качества и безопасности. материалы международной научно-практической конференции. 2016. С. 224-230.
7. Матросова Л.Е., Чередниченко Ю.В., Матвеева Е.Л., Семенов Э.И., Тремасов М.Я. Случай кандидоза уток //Успехи медицинской микологии. 2016. Т. 16. С. 216.

8. Баймухаметов Ф.З., Хузин Д.А., Тарасова Е.Ю., Юсупов С.А., Яруллин А.И. Ингибиторы металло-беталактамаз - добавки к антибиотикам для лечения болезней копыт у коров // Ветеринарный врач. 2025. № 4. С. 12-17.
9. Р 4.2.3676-20. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности (утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А.Ю. Поповой 18.12.2020) / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. М., 2021. 492 с.

References

1. Gasretova T.D., Tyukavkina S.Yu., Kharseeva Candidiasis. Microbiological diagnostics of candidiasis // Textbook for the system of postgraduate professional education of bacteriologists / Rostov-on-Don, 2010
2. Shevyakov M.A. Diagnostics and treatment of intestinal candidiasis // Therapeutic archive. 2003. Vol. 75. No. 11. P. 77-78.
3. Bazhukova T.A. Etiological significance of Candida fungi in purulent-septic diseases // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 1997. No. 3. P. 101-102.
4. Chulkov A.K., Ivanov A.V., Semenov E.I., Matrosova L.E. The problem of mycotoxicoses during import and adaptation of imported cattle // Veterinary doctor. 2007. No. 5. P. 56.
5. Tremasov M.Ya., Ivanov A.V., Papunidi K.Kh., Semenov E.I. The problem of mycotoxicoses in animals // Veterinary doctor. 2010. No. 5. P. 16-19.
6. Tremasov M.Ya., Semenov E.I., Tanaseva S.A., Korosteleva V.P., Tremasov Yu.M. Mycotoxicosis problems in the Russian Federation // In the collection: Commodity science and examination, production of food and feed products, ensuring their quality and safety. materials of the international scientific and practical conference. 2016. P. 224-230.
7. Matrosova L.E., Cherednichenko Yu.V., Matveeva E.L., Semenov E.I., Tremasov M.Ya. A case of candidiasis in ducks // Advances in Medical Mycology. 2016. Vol. 16. P. 216.
8. Baimukhametov F.Z., Khuzin D.A., Tarasova E.Yu., Yusupov S.A., Yarullin A.I. Metallo-betalactamase inhibitors - additives to antibiotics for the treatment of claw diseases in cows // Veterinary Doctor. 2025. No. 4. pp. 12-17.
9. R 4.2.3676-20. Methods of laboratory research and testing of disinfectants to assess their effectiveness and safety (approved by the Head of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation A.Yu. Popova on 12/18/2020) / Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Moscow, 2021. 492 p.

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;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 10 – 15
The Veterinarian. 2026; (2): 10 – 15

Научная статья

УДК 619:614.4:615.7:636.088:636

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_10

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «К-55» ПРИ ЭЙМЕРИОЗЕ ИНДЕЕК

Рамис Разяпович Гиззатуллин, кандидат ветеринарных наук, gizzatullin.1987@bk.ru

Рамия Разяповна Гиззатуллина, кандидат ветеринарных наук, gizzatullina.miya@bk.ru

Оразали Турманович Муллакаев, доктор ветеринарных наук, omullakayev@mail.ru

Нияз Фидаилевич Садыков, кандидат биологических наук, niyz-sadikov@mail.ru

Гульнар Мидахатовна Низамова, кандидат биологических наук, nizamovagulnar@mail.ru

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

Разалия Рустамовна Тимербаева, кандидат ветеринарных наук, 89033401420@mail.ru

ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет» Институт Казанская академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана

Автор, ответственный за переписку: Рамис Разяпович Гиззатуллин.

Аннотация. В данной работе была изучена профилактическая эффективность новой фармацевтической композиции под названием «К-55», разработанной под руководством профессора И.В. Галкиной, для защиты индеек от эймериоза. Основными компонентами состава являются 5,7-динитро-4,6-бис (3-нитрофениламино) бензофуросан, н-гексадецилтрифенил фосфоний бромид, активированный уголь, полиэтиленгликоль 1500 и глюкоза. Лекарственное средство применяли у индюшат в первые сутки жизни, вводя его либо подкожно, либо через корм в дозировке 30 мг на килограмм массы тела. Результаты показали, что у птиц, получавших «К-55», не выявлялись ооцисты эймерий, в то время как в контрольной группе они присутствовали [8]. В течение 98 дней выращивания выживаемость птиц при подкожном введении соединения достигала 100%, а при кормовом способе – 83,4%, что значительно превышало показатели контрольной группы (71,4%). Кроме того, обработанные индюшата демонстрировали более быстрый набор массы: разница в весе с контрольными птицами составила 253 грамма при подкожном введении и 73 грамма при алиментарном. Также у обработанных особей отмечалось увеличение выхода мяса – на 5,9% при подкожном способе и на 2,1% при кормовом, по сравнению с контрольной группой. Таким образом, «К-55» проявил высокую эффективность в профилактике эймериоза и положительно влиял на продуктивные показатели индеек.

Ключевые слова: соединения, профилактика, «К-55», индюшата, эймерий, ооцисты, доза, эффективность

Для цитирования: Гиззатуллин Р. Р., Гиззатуллина Р. Р., Муллакаев О. Т., Садыков Н. Ф., Низамова Г. М., Закиров Т. М., Тимербаева Р. Р. Профилактическая эффективность лекарственного средства «К-55» при эймериозе индеек // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 10 – 15. DOI:10.33632/1998-698X_2026_2_10

THE PREVENTIVE EFFECTIVENESS OF THE MEDICINE "K-55" AGAINST EIDEMIA IN POULTRY

Ramis R. Gizzatullin, Candidate of Veterinary Sciences, gizzatullin.1987@bk.ru

Ramiya R. Gizzatullina, Candidate of Veterinary Sciences, gizzatullina.miya@bk.ru

Orazali T. Mullakayev, Doctor of Veterinary Sciences, omullakayev@mail.ru

Niyaz F. Sadykov, Candidate of Biological Sciences, niyz-sadikov@mail.ru

Gulnar M. Nizamova, Candidate of Biological Sciences, nizamovagulnar@mail.ru

Tagir M. Zakirov, Candidate of Biological Sciences, tagir0410907@mail.ru

Razaliya R. Timerbaeva, Candidate of Veterinary Sciences, 89033401420@mail.ru

Corresponding author: Gizzattullin Ramis Razyapovich

Abstract. In this work, the preventive effectiveness of a new pharmaceutical composition called "K-55", developed under the supervision of Professor I.V. Galkina, was studied to protect turkeys from eimeriosis. The main components of the composition are 5,7-dinitro-4,6-bis (3-nitrophenylamino) benzofuroxane, n-hexadecyltriphenylphosphonium bromide, activated carbon, polyethylene glycol 1500, and glucose. The drug was administered to turkey chicks on the first day of life, either subcutaneously or through the feed, at a dosage of 30 mg per kilogram of body weight [8]. The results showed that the birds treated with K-55 did not have any oocysts of *Eimeria*, while the control group did. During the 98 days of rearing, the survival rate of birds injected subcutaneously reached 100%, while the survival rate of birds fed the compound was 83.4%, which was significantly higher than the control group (71.4%). In addition, the treated turkeys showed faster weight gain: the difference in weight between the treated and control birds was 253 grams for subcutaneous administration and 73 grams for oral administration. The treated birds also had a higher meat yield, with a 5.9% increase for subcutaneous administration and a 2.1% increase for oral administration, compared to the control group. Therefore, K-55 was highly effective in preventing coccidiosis and had a positive impact on the productive performance of turkeys.

Keywords: compounds, prevention, K-55, turkeys, eimeria, oocysts, dose, effectiveness

Введение. В современных условиях промышленного птицеводства полностью исключить риск возникновения паразитарных заболеваний невозможно, поскольку технология предполагает напольное содержание маточного поголовья. Сегодняшние меры борьбы с паразитами базируются на комплексном подходе, объединяющем как лечебные, так и профилактические процедуры. В птицеводческих предприятиях профилактическая и лечебная дегельминтизация играет ключевую роль в системе оздоровления птиц. Тем не менее, высокая плотность посадки и особая восприимчивость молодняка к паразитам, а также развитие устойчивости возбудителей к применяемым препаратам значительно снижают эффективность существующих методов борьбы. Для успешного контроля паразитарных инвазий на птицефабриках используются противопаразитарные средства с разным химическим составом и механизмом действия [4, 6]. При этом продолжают исследования и разработки новых, более эффективных лекарственных препаратов, способных повысить результативность противопаразитарных мероприятий [1, 2, 9, 10].

Важным направлением в совершенствовании противопаразитарной терапии является внедрение интегрированных систем мониторинга и диагностики, позволяющих своевременно выявлять очаги инвазий и оценивать эффективность применяемых препаратов. Использование современных молекулярно-биологических методов диагностики способствует более точному определению видов паразитов и их чувствительности к лекарственным средствам, что позволяет корректировать лечебные и профилактические мероприятия с учетом эпизоотической ситуации на конкретном предприятии [3, 5, 7]. Кроме того, особое внимание уделяется вопросам рационального применения противопаразитарных препаратов с целью предотвращения формирования резистентных штаммов паразитов, что требует разработки регламентов и рекомендаций по дозировкам, схемам и периодичности обработки птицы.

Целью нашей работы является изучение профилактической эффективности новой фармацевтической композиции «К-55», при подкожном и пероральном введении при эймериозе индюшат.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 40 дневные индюшата со средним весом $66,2 \pm 0,51$ г. После первоначального взвешивания птиц разделили на три группы. Первой группе подкожно вводили стерильный водный раствор соединения «К-55» в дозировке 30 мг на килограмм массы тела, объем инъекции составлял 0,5 мл. Второй группе соединение давали перорально в той же дозе. Третья группа служила контрольной и не получала лекарственное средство. Все индюшата содержались в условиях вивария кафедры эпизоотологии, паразитологии и патологической анатомии Казанского государственного аграрного университета и кормились промышленным комбикормом. На шестой день после введения лекарственного средства птиц инфицировали смешанной культурой спорулированных ооцист эймерий в количестве 3000 ооцист на килограмм массы тела. Пробы помета собирали для анализа до заражения, а также на 3-й, 7-й и 14-й день после инфицирования. Для выявления ооцист использовали метод Фюллеборна. Взвешивания птиц проводились на 4-й, 7-й, 9-й, 11-й, 30-й, 60-й и 98-й день. По окончании эксперимента, на 98-й день, индюшат забивали и определяли выход мяса.

Результаты исследований и их обсуждение. Данные по изучению профилактической эффективности лекарственного средства «К-55» представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты изучения профилактической эффективности лекарственного средства «К-55»

№ п/п	Группа птиц	Сроки исследования после заражения и показатели								
		3			7			14		
		ИИ	ЭИ	ЭЭ	ИИ	ЭИ	ЭЭ	ИИ	ЭИ	ЭЭ
1	Первая опытная	0,5±1,4	50,0	50,0	0	0	100	0	0	100
2	Вторая опытная	0,5±1,4	50,0	50,0	0	0	100	0	0	100
3	Контрольная	34,0±2,4	100	-	49,5±1,87	100	-	60,0±4,3	100	-

Анализ данных показывает, что через три дня после применения соединения у индюшат первой группы количество ооцист было минимальным - в среднем 0,5±1,4. У пятерых птиц обнаружили по одной ооцисте, при этом показатели интенсивности и экстенсивности инвазии составили по 50%. Уже на седьмой и пятнадцатый день, а также в последующие периоды, ооцисты в образцах не выявлялись, а экстенсивность инвазии у индюшат контрольной группы достигла 100%.

В то же время у контрольной группы птиц интенсивность заражения по помету на третий день составляла 34,0±2,4 ооцист, на седьмой - 49,5±1,8, а на четырнадцатый - 60,0±4,3 соответственно. Экстенсивность инвазии оставалась на уровне 100% во все эти сроки. Кроме того, у индюшат из контрольной группы наблюдались ухудшение общего состояния, потеря аппетита и диарея.

После применения лекарственного средства были проведены взвешивания индюшат, результаты которых показали, что средний вес птиц в первой опытной группе составил 66,4±0,75 г, во второй – 65,8±0,61 г, а в контрольной группе – 66,4±0,47 г. Результаты взвешивания индюшат в разные сроки после введения соединения представлены в таблице 2. Из таблицы видно, что на четвертый день после обработки средний вес индюшат в первой группе достиг 92,8±0,41 г, во второй – 92,5±0,53 г, тогда как в контрольной группе он был ниже и составил 88,3±0,63 г. Суточный прирост массы тела у птиц первой группы составил 8,8 г, у второй – 8,9 г, в то время как в контрольной группе он был меньше – 7,3 г.

На седьмой день вес индюшат первой группы достиг 131±0,7 г, на девятый – 153±0,5 г, на одиннадцатый – 211,4±1,03 г, а к тридцатому дню – 1031±2,8 г. Эти показатели оказались выше, чем у контрольных птиц, соответственно на 6, 4, 6,4 и 6 граммов. Во второй опытной группе разница массы тела индюшат с животными контрольной группы была менее выраженной: на седьмой день вес индюшат второй группы превышал аналогичный показатель птиц контрольной группы на 5 г, на девятый – на 3 г. Однако к одиннадцатому и тридцатому дню показатели массы тела индюшат второй группы сравнивались с контрольными значениями.

На 11-й день эксперимента среднесуточный прирост массы тела индюшат первой опытной группы составил 14,5 г, во второй – 13,6 г, а в контрольной – 13,9 г. Однако к 30-му дню различия в суточном приросте между опытными и контрольными группами уже не наблюдались.

К 60-му дню средний вес индюшат в первой группе достиг 3125±20,8 г, во второй – 3026±19,1 г, а в контрольной – 2960±18,4 г. На 100-й день показатели были соответственно 6516±60,3 г, 6333±92,3 г и 6260±86,4 г. Разница в весе между опытными и контрольными птицами на 60-й день составила 165 г в первой группе и 66 г во второй, а на 100-й день – 256 г и 73 г соответственно.

Среднесуточный прирост массы на 60-й день был равен 51,8 г в первой группе, 59,0 г во второй и 49,0 г в контрольной. К 98-му дню эти показатели увеличились до 66,5 г, 64,3 г и 63,9 г соответственно. Таким образом, прирост массы у индюшат первой группы превысил контрольный на 2,8 г на 60-й день и на 2,6 г на 98-й, а во второй группе – на 10 г и 0,4 г соответственно.

На 98 день после взвешивания птиц провели убой, после чего определили массу тушек и процент выхода мяса.

Результаты исследования, представленные в таблице 2, показывают, что средний живой вес индюшат перед убоем в группе с подкожным введением соединения «К-55» составил 6516 г, при этом вес тушки достиг 5128,1 г, а выход мяса - 78,7%. В группе, где препарат применяли алиментарно

(через корм), средний живой вес был 6333 г, вес тушки - 4743,4 г, а выход мяса - 74,9%. У контрольных птиц, которые не получали соединение, средний живой вес перед убоем составил 6260 г, вес тушки - 4557,2 г, а выход мяса - 72,3%.

Таким образом, применение лекарственного средства «К-55» способствовало увеличению выхода мяса: при подкожном введении этот показатель был выше на 6,4% по сравнению с контролем, а при алиментарном введении на 3,6%. Это свидетельствует о положительном влиянии соединения на продуктивность индюшат.

Таблица 2 – Результаты убоя индюшат на 98 день с профилактической целью после введения лекарственного средства «К-55»

№ п/п	Группы	Живой вес перед убоем (грамм)	Вес тушки (грамм)	Выход мяса (%)
1	Опыт – 1 (подкожно)	6516	5128,1	78,7
2	Опыт – 2 (алиментарно)	6333	4743,4	74,9
3	Контрольная	6260	4557,2	72,8

Таблица 3 – Сохранность индюшат после введения соединения «К-55»

№ п/п	Группа индюшат	Кол-во птиц	Срок исследования (сутки)								Сохран- ность (%)
			2		4		6		10		
			гол	%	гол	%	гол	%	гол	%	
1	Первая опытная группа	14	-	-	-	-	-	-	-	-	100
2	Вторая опытная группа	12	-	-	2	16,6	-	-	-	-	83,4
3	Контрольная	14	-	-	2	14,3	2	14,3	-	-	71,4

Из представленных данных в таблице 3 видно, что в первой опытной группе сохранность птиц за весь период эксперимента составила 100%, то есть все индюшата успешно дожили до конца эксперимента. Во второй группе, где применялось алиментарное введение, из 12 индюшат двое погибли на 4-й день опыта, что снизило сохранность до 83,4%. В контрольной группе, состоящей из 14 птиц, по две особи погибли на 4-й и 6-й сутки соответственно, в результате чего сохранность составила 71,4%. Эти результаты показывают, что условия в первой опытной группе были наиболее благоприятными для выживания индюшат.

Заключение. Соединение «К-55», применяемое у индюшат в суточном возрасте, эффективно предотвращает развитие эймериоза при подкожном и алиментарном введении в дозировке 30 мг/кг. В то время как у птиц контрольной группы в ходе наблюдений выявлялись ооцисты эймерий, у обработанных индюшат их не обнаруживали. За период выращивания, который длился 98 суток, сохранность птиц при подкожном введении препарата достигала 100%, при алиментарном способе – 83,4%, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 71,4%. Кроме того, использование «К-55» способствовало более активному росту молодняка: разница в массе тела между обработанными и контрольными индюшатами составила 253 г при подкожном введении и 73 г при алиментарном. Также отмечено увеличение выхода мяса у птиц, получавших лекарственное средство при подкожном введении. Разница увеличения выхода мяса с контрольной группой была выше на 5,9% – для индюшат первой группы, и на 2,1% – для птиц второй группы.

Список источников

1. Гиззатуллин, Р.Р. Сравнительная эффективность различных препаратов с новой композицией «с-14» для лечения эймериоза кроликов / Р.Р. Гиззатуллин, Е.В. Бурданова // Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК: Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной 115-летию со дня рождения профессора Н.А. Крыловой, Казань, 28 марта 2025 года. – Казань:

Казанский государственный аграрный университет, 2025. – С. 167-170.

2. 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.
3. Гиззатуллин, Р.Р. Острая токсичность и раздражающее действие нового лекарственного средства "Азометин" / Р.Р. Гиззатуллин, Р.Р. Галаяутдинова, 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.
4. Гиззатуллин, Р.Р. Структурная оценка эффективности применения соединения «К-55» при эймериозе цыплят / Р.Р. Гиззатуллин, М.Х. Лутфуллин, Д.Н. Мингалиев [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.
5. 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.
6. Идрисов, А.М. Профилактическая эффективность некоторых препаратов при эймериозе кур / А.М. Идрисов, М.Х. Лутфуллин, И.Н. Залялов [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2012. – № 13. – С. 181-182.
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.
8. 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.
9. 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.
10. Шевченко, М.С. Эффективность противоклещевых препаратов для лечения эймериоза крупного рогатого скота / М.С. Шевченко, Р.Р. Тимербаева, М.Х. Лутфуллин [и др.] // Модернизация аграрного образования: Сборник научных трудов по материалам XI Международной научно-практической конференции, Томск, 15 декабря 2023 года. – Томск-Новосибирск: ИЦ НГАУ "Золотой колос", 2023. – С. 188-190.

References

1. Gizzatullin, R.R. Comparative Effectiveness of Various Preparations with the New Composition "c-14" for the Treatment of Eimeriosis in Rabbits / R.R. Gizzatullin, E.V. Burdanova // Youth Developments and Innovations in Solving Priority Problems of the Agro-Industrial Complex: Collection of Scientific Papers Based on the Materials of the International Scientific Conference of Students, Postgraduate Students, and Young People Dedicated to the 115th Anniversary of Professor N.A. Krylova, Kazan, March 28, 2025. – Kazan: Kazan State Agrarian University, 2025. – P. 167-170.
2. Gizzatullina, R.R. Distribution of Parasitosis in Farms for Growing Turkeys / R.R. Gizzatullina, N.A. Lutfullina, M.Kh. Lutfullin // Theory and Practice of Parasitic Diseases Control. – 2014. – No. 15. – Pp. 69-71.
3. 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 N.E. Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine. – 2020. – Vol. 242, No. 2. – Pp. 44-46. – doi 10.31588/2413-4201-1883-242-2-44-47.
4. Gizzatullin, R.R. Structural assessment of the effectiveness of the K-55 compound 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.
5. Zaitseva, A.V. Study of the Effect of the Antiparasitic Compound "SP" on the Morphological Parameters of Blood in 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.
6. Idrisov, A.M. Preventive Effectiveness of Some Preparations in the Treatment of Chicken Coccidiosis / A.M. Idrisov, M.Kh. Lutfullin, I.N. Zalyalov [et al.] // Theory and Practice of Parasitic Diseases Control. – 2012. – No. 13. – Pp. 181-182.
 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.
 8. 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.
 9. Shangaraev, R.I. Toxicological assessment of azometin "C-18" and study of the anthelmintic effectiveness of its various doses in nematodiasis of cattle / 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.
 10. Shevchenko, M.S. The Effectiveness of Anticoaccidial Drugs for the Treatment of Eimeriosis in Cattle / M.S. Shevchenko, R.R. Timerbaeva, M.Kh. Lutfullin [et al.] // Modernization of Agrarian Education: Collection of Scientific Papers based on the materials of the 11th International Scientific and Practical Conference, Tomsk, December 15, 2023. – Tomsk-Novosibirsk: Zolotoy Kolos Publishing House, 2023. – Pp. 188-190.

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 03.03.2026;

© Гиззатуллин Р. Р., Гиззатуллина Р. Р., Муллакаев О. Т., Садыков Н. Ф., Низамова Г. М., Закиров Т. М., Тимербаева Р. Р. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 16 – 21
The Veterinarian. 2026; (2): 16 – 21

Научная статья
УДК 619:631.015
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_16

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАТРИЯ СУЛЬФИДА И ПРОИЗВОДНЫХ ФУМАРОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ КОНТАМИНАЦИИ КОРМОВ ТОКСИЧНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ

Екатерина Ивановна Куршакова, кандидат биологических наук, *keter-89@mail.ru*
Ильнур Равилевич Кадиков, доктор биологических наук, *cir6@yandex.ru*
Даниль Рустамович Сагдеев, кандидат ветеринарных наук, *sagdeevdanil@mail.ru*
Эмиль Касымович Рахматуллин, доктор ветеринарных наук, *amil59@yandex.ru*
Искандер Фоатович Вафин, кандидат биологических наук, *millu84@rambler.ru*
Екатерина Николаевна Майорова, кандидат биологических наук, *majorovaen83*
Андрей Александрович Корчемкин, кандидат биологических наук, *yzkiy@mail.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Екатерина Ивановна Куршакова.

Аннотация. В ходе экспериментов было установлено, что использование производных фумаровой кислоты (фумарата калия в дозе 25 мг/кг массы тела и фумарата кальция в дозе 25 мг/кг массы тела) и комплексобразующего препарата – натрия сульфида в дозе 10 мг/кг массы тела благоприятно влияет при отравлении белых крыс солями тяжелых металлов. В группе, которая получала натрия сульфид вместе с фумаратом калия, (третья группа) показатели эритроцитов и гемоглобина росли на 26 и 24 % соответственно. В четвертой группе, получавшей фумарат кальция и натрия сульфид, эти параметры увеличивались на 25 и 24 %, в группе животных, которым вводили фумаровую кислоту и комплексобразующий препарат (пятая группа) – на 24 и 25 %, соответственно, по отношению к токсическому контролю. У животных, получавших препараты, прослеживалась тенденция к снижению содержания лейкоцитов до референсных значений. На ряду с этим в третьей группе наблюдалось уменьшение уровней АЛТ и АСТ на 25 % и 32 % соответственно, а щелочная фосфатаза, креатинин и мочевины снизились на 10 %, 17 % и 16 % по сравнению с группой животных, получавших только соли металлов. У животных четвертой группы, которые получали токсиканты фумарат кальция и натрия сульфид, также прослеживалась тенденция к снижению указанных биохимических показателей, которые были ниже на 32; 40; 10; 18 и 18 % по отношению к токсическому контролю. Таким образом, использование в рационе производных фумаровой кислоты и комплексобразующего препарата – натрия сульфида при экспериментальном металлотоксикозе способствовало снижению токсической нагрузки, нормализовало морфологические и биохимические показатели крови белых крыс.

Ключевые слова: тяжелые металлы, аспартат - и аланинаминотрансферазы, щелочная фосфатаза, билирубин

Для цитирования: Куршакова Е. И., Кадиков И. Р., Сагдеев Д. Р., Рахматуллин Э. К., Вафин И. Ф., Майорова Е. Н., Корчемкин А. А. Эффективность натрия сульфида и производных фумаровой кислоты при контаминации кормов токсичными элементами // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 16 – 21. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_16

EFFECTIVENESS OF SODIUM SULFIDE AND FUMARIC ACID DERIVATIVES IN CONTAMINATING FEED WITH TOXIC ELEMENTS

Ekaterina I. Kurshakova, Candidate of Biological Sciences, *keter-89@mail.ru*
Ilnur R. Kadikov, Doctor of Biological Sciences, *cir6@yandex.ru*
Danil R. Sagdeev, Candidate of Veterinary Sciences, *sagdeevdanil@mail.ru*
Emil K. Rakhmatullin, Doctor of Veterinary Sciences, *amil59@yandex.ru*
Iskander F. Vafin, Candidate of Biological Sciences, *millu84@rambler.ru*

Ekaterina N. Mayorova, Candidate of Biological Sciences, *majorovaen83*
 Andrey A. Korchemkin, Candidate of Biological Sciences, *yzkiy@mail.ru*

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

Corresponding author: Kurshakova Ekaterina Ivanovna.

Abstract. During the experiments, it was found that the use of fumaric acid derivatives (potassium fumarate at a dose of 25 mg/kg of body weight and calcium fumarate at a dose of 25 mg/kg of body weight) and a complex-forming drug, sodium sulfide at a dose of 10 mg/kg of body weight, has a beneficial effect on the poisoning of white rats with heavy metal salts. In the group that received sodium sulfide along with potassium fumarate, (the third group), red blood cell and hemoglobin counts increased by 26 and 24%, respectively. In the fourth group treated with calcium fumarate and sodium sulfide, these parameters increased by 25 and 24%, in the group of animals treated with fumaric acid and a complexing agent (the fifth group) – by 24 and 25%, respectively, relative to toxic control. In the animals that received the drugs, there was a tendency for the white blood cell count to decrease to reference values. In addition, ALT and AST levels decreased by 25% and 32%, respectively, in the third group, while alkaline phosphatase, creatinine, and urea decreased by 10%, 17%, and 16%, respectively, compared to the group of animals that received only metal salts. In the fourth group of animals, which received the toxicants calcium fumarate and sodium sulfide, there was also a tendency for the indicated biochemical parameters to decrease, which were lower by 32; 40; 10; 18, and 18% in relation to the toxic control. Thus, the use of fumaric acid derivatives and the complex-forming drug sodium sulfide in the diet of experimental metallotoxicosis rats contributed to a decrease in the toxic load and normalization of the morphological and biochemical parameters of the blood of white rats.

Keywords: heavy metals, aspartate and alanine aminotransferases, alkaline phosphatase, bilirubin

Введение. Природные ресурсы, которые используются в глобальной системе производства не редко аккумулируются в виде отходов в окружающей среде и способны наносить вред сельскому хозяйству и здоровью человека [5]. Среди наиболее распространённых загрязнителей среды встречаются элементы с выраженной экологической токсичностью, в частности тяжёлые металлы (свинец, кадмий, ртуть) [2, 6]. Поступление в организм, в течении продолжительного времени, тяжёлых металлов вызывает у животных хроническое отравление и основными его признаками являются угнетение и снижение продуктивности [3].

В современных реалиях, когда уровень загрязнения окружающей среды постоянно повышается, работникам аграрного сектора остается лишь адаптироваться и научиться эффективным приёмам нейтрализации вредного действия и выведения из организма экотоксикантов [1]. Разработка эффективных и безопасных лекарственных средств, которые обладают детоксикационными, антиоксидантными, иммуностимулирующими свойствами является приоритетным направлением в животноводстве, также они способны снизить уровень токсикантов в организме животных [10]. Было доказано, что янтарная и фумаровая кислоты, сукцинаты и фумараты в качестве адаптогенов при металлотоксикозах стимулируют клеточное дыхание и производство новых клеток, снижают стрессовые реакции, а также восстанавливают энергообмен [4, 11, 12].

Материалы и методы. Эксперимент длительностью 30 суток выполняли на 30 белых крысах (масса 180–190 г), разделённых на пять групп по 6 особей. Группа 1 служила биологическим контролем. Группа 2 (токсический контроль) получала с кормом кадмий (0,15 мг/кг) и свинец (25 мг/кг). Группа 3 дополнительно к металлам получала в воде фумарат калия (25 мг/кг) и сульфид натрия (10 мг/кг) [6]. Группа 4 на фоне токсинов получала фумарат кальция (25 мг/кг) и сульфид натрия (10 мг/кг). Группе 5 вместе с солями металлов задавали фумаровую кислоту (25 мг/кг) и сульфид натрия (10 мг/кг) [7]. Доступ животных к питьевой воде и кормам не был ограничен.

Для оценки гематологических параметров применяли анализатор Mythic 18 Vet (Orphee Geneva, Швейцария). Биохимический анализ сыворотки крови проводили на автоматическом анализаторе АРД-200 (ООО «ВИТАКО», Россия) с использованием коммерческих наборов реагентов Chronolab Systems S.L. (Испания). [9, 11].

Результаты исследований и их обсуждение. Эксперимент показал, что крысы, подвергшиеся воздействию кадмия и свинца, демонстрировали подавленное состояние и снижение аппетита. Другие группы животных не показали видимых поведенческих изменений. К концу исследования масса тела у подопытных, получавших токсиканты, снизилась на 20% по сравнению с биологическим контролем (таблица 1). В то же время, у животных в третьей, четвертой и пятой группах, получавших

препараты, масса тела [6] к 30-м суткам была в среднем на 19% выше, чем у группы токсического контроля.

Таблица 1 – Влияние препаратов на динамику живой массы крыс на фоне воздействия кадмия и свинца, (n=6), (M±m)

Название группы	Срок исследования, сут	
	начало опыта, г	конец опыта (30 сут), г
Биологический контроль	184,60±0,25	192,60±0,21
Кадий+свинец	187,15±0,21	155,25±0,18
Кадмий+свинец+ фумарат калия	183,10±0,17	185,61±0,11
Кадмий+свинец+ натрия сульфид+ +фумарат кальция	182,12±0,18	185,21±0,31
Кадмий+свинец+ натрия сульфид+ +фумаровая кислота	187,10±0,21	186,10±0,25

Гематологические показатели представлены в таблице 2. В группе крыс, получавших только токсиканты, наблюдалось снижение уровня эритроцитов на 23% и гемоглобина на 26% по сравнению с биологическим контролем. В то же время, количество лейкоцитов увеличилось на 23% относительно группы, получавшей обычный рацион.

Совместное введение препаратов с солями кадмия и свинца продемонстрировало тенденцию к восстановлению содержания эритроцитов и гемоглобина в крови подопытных животных, в отличие от группы токсического контроля. Третья группа (натрия сульфид и фумарат калия) показала увеличение на 26% и 24% соответственно. Четвертая группа (фумарат кальция и натрия сульфид) [6] – на 25% и 24%. Пятая группа (фумаровая кислота и комплексобразующий препарат) – на 24% и 25% соответственно. У животных, получавших препараты, прослеживалась тенденция к снижению содержания лейкоцитов до референсных значений.

Таблица 2 – Морфологические показатели крови белых крыс на фоне воздействия токсичных элементов и фармакокоррекции антитоксическими веществами, (n=6), (M±m)

Показатель	Группа животных				
	Биологический контроль	Cd+Pb	Cd+Pb + натрия сульфид+ +фумарат калия	Cd+Pb+ +натрия сульфид+ +фумарат кальция	Cd+Pb + +натрия сульфид+ +фумаровая кислота
Фон					
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,59±0,15	7,16±0,26	7,25±0,21	7,10±0,26	7,55±0,34
Гемоглобин, г/л	126,11±2,50	125,21±3,50	121,08±2,11	124,35±4,10	126,22±2,20
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,30±0,24	9,30±0,41	9,70±0,26	9,50±0,10	9,50±0,24
30 сут					
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,26±0,18	5,45±0,20	6,90±0,22*	6,85±0,21*	6,78±0,31*
Гемоглобин, г/л	128,26±2,10	94,00±2,81	117,30±2,20*	117,00±1,21*	118,00±1,71*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,80±0,35	12,10±0,62	10,10±0,24*	9,90±0,42*	9,91±0,51*
*p ≤ 0,05 в сравнении с контрольной группой.					

Воздействие кадмия и свинца на крыс привело к повышению уровней АЛТ и АСТ на 46% и 48% соответственно, а также щелочной фосфатазы (ЩФ) на 17% по сравнению с биологическим контролем к 30-м суткам (таблица 3). Кроме того, к концу исследования наблюдалось увеличение содержания креатинина на 21% и мочевины на 17%. [6].

Применение препаратов у крыс, подвергшихся интоксикации тяжелыми металлами (кадмием и свинцом), способствовало нормализации уровней печеночных ферментов, конечного продукта ме-

таболизма белка и креатин-фосфатной реакции по сравнению с группой токсического контроля. Это свидетельствует о положительном действии препаратов в условиях интоксикации.

Анализ данных таблицы 3 демонстрирует, что в третьей группе животных, помимо солей металлов, получавших препараты, наблюдалось существенное снижение концентрации печеночных ферментов: АЛТ на 25% и АСТ на 32%. Уровни щелочной фосфатазы, креатинина и мочевины снизились на 10%, 17% и 16% соответственно, по сравнению с группой, получавшей только соли металлов. Аналогичная тенденция к снижению всех указанных биохимических показателей [6] была отмечена и в четвертой группе (фумарат кальция + натрия сульфид), где значения были ниже показателей токсического контроля на 32% (АЛТ), 40% (АСТ), 10% (ЩФ), 18% (креатинин) и 18% (мочевина).

Таблица 3 – Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс на фоне воздействия токсичных элементов и фармакокоррекции антитоксическими веществами, (n=6), (M±m)

Показатель	Группа животных				
	Биологический контроль	Cd+Pb	Cd+Pb + натрия сульфид+ фумарат калия	Cd+Pb+ натрия сульфид+ фумарат кальция	Cd+Pb + натрия сульфид+ фумаровая кислота
Фон					
АЛТ, Ед/л	29,11±1,50	30,11±1,71	30,11±1,14	29,30±0,95	30,12±1,15
АСТ, Ед/л	34,18±1,11	38,01±0,50	37,70±0,98	37,50±1,08	38,01±2,80
ЩФ, Ед/л	279,21±16,31	278,12±11,9	279,15±11,05	280,46±11,23	276,41±11,80
Креатинин, мкмоль/л	75,06±1,96	76,10±1,92	74,17±2,5	75,01±1,5	76,21±12,8
Мочевина, ммоль/л	6,17±0,25	6,13±0,35	6,12±0,16	6,14±0,59	6,11±0,31
Общий белок, г/л	70,18±1,90	71,81±1,90	72,61±1,80	71,90±1,90	71,16±2,34
30 сут					
АЛТ, Ед/л	29,65±1,54	55,03±1,50	41,11±1,99*	37,10±0,51*	38,91±1,90*
АСТ, Ед/л	35,11±1,21	67,50±2,19	45,12±2,30*	40,75±1,90*	40,50±3,30*
ЩФ, Ед/л	281,52±11,10	340,17±10,15	304,14±15,4*	304,21±9,41*	305,11±10,10*
Креатинин, мкмоль/л	75,21±2,10	95,24±2,15	79,5±2,40*	78,40±0,90*	79,11±3,50*
Мочевина, ммоль/л	6,45±0,22	7,80±0,56	6,51±0,21	6,40±0,30	6,60±0,41*
Общий белок, г/л	71,80±3,34	70,01±2,55	69,91±3,31	70,50±3,21	70,10±2,50
*p ≤ 0,05 в сравнении с контрольной группой.					

В пятой группе белых крыс, которым вводили совместно натрия сульфид и фумаровую кислоту, снижение концентрации данных показателей составило 29; 40; 10; 17 и 15 % в сравнении с показателями животных, получавших только соли кадмия и свинца. Содержание общего белка в сыворотке крови не претерпевало видимых изменений.

Заключение. Исследование подтвердило положительное влияние производных фумаровой кислоты (фумарата калия и фумарата кальция, 25 мг/кг) и натрия сульфида (10 мг/кг) при интоксикации солями кадмия и свинца у белых крыс. Совместное использование этих препаратов в условиях металлотоксикоза снижало общую токсическую нагрузку, а также способствовало нормализации морфологического и биохимического состава крови животных.

Список источников

1. Галочкин, В. А. Проблема получения безопасной животноводческой продукции в экологически неблагоприятных регионах: биологические предпосылки и возможные пути решения / В. А. Га-

- лочкин, А. В. Агафонова, В. П. Галочкина, Г. Г. Черепанов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2014. – № 3. – С. 5-36. – EDN SYCDQV.
2. Гизатуллин, Руслан Рафаэлевич Влияние натрия сульфида на естественную резистентность организма при отравлении животных солями тяжелых металлов : автореферат дис. ... кандидата биологических наук : 16.00.04 / Гизатуллин Руслан Рафаэлевич; [Место защиты: Федер. центр токсик. и радиац. безопасности животных]. — Казань, 2007. — 23 с.
 3. Дорожкин, В. И. Эффективность фармакологических средств для снижения негативного воздействия при интоксикации животных кадмием и свинцом / В. И. Дорожкин, Г. И. Павленко, Н. С. Павлова, Н. А. Бричко, Д. А. Дроздов // Ветеринарная фармакология, токсикология и радиобиология. – 2020. – № 2 (34). – С. 255-262.
 4. Закирова, Г. Ш. Эффективность применения солей фумаровой и янтарной кислот при комбинированном поражении кроликов / Г. Ш. Закирова, К. Т. Ишмухаметов, В. Р. Сайтов, И. Р. Кадиков // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2022. – Т. 8, № 3(31). – С. 256-263. – DOI 10.30914/2411-9687-2022-8-3-256-263. – EDN OLZDLR.
 5. Кадиков, И. Р. Эффективность комплексообразующих соединений при воздействии кадмия и свинца на организм белых крыс / И. Р. Кадиков, Д. И. Куршакова, Д. Р. Сагдеев, Э. К. Рахматуллин, Е. Н. Майорова, И. Ф. Вафин, А. А. Корчемкин // Ветеринарный врач. – 2025. – № 5. – С. 17-23. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_5_17. – EDN SENXXY.
 6. Кадиков, И. Р. Применение комплексообразующих препаратов при экспериментальном металлотороксикозе белых крыс / И. Р. Кадиков, Е. И. Куршакова, Д. Р. Сагдеев [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2025. – № 3. – С. 165-169. – EDN YVUMSI.
 7. Куршакова, Е. И. Терапевтическая эффективность антитоксических веществ при экспериментальном металлотороксикозе белых крыс / Е. И. Куршакова, И. Р. Кадиков, Д. Р. Сагдеев [и др.] // Актуальные вопросы клинической ветеринарной медицины : Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, посвященной 150-летию кафедры терапии и клинической диагностики с рентгенологией, Казань, 24 октября 2025 года. – Казань: Казанский государственный аграрный университет, 2025. – С. 182-188. – EDN ZWNDWC.
 8. Куршакова, Е. И. Применение комплексного препарата на основе модифицированного бентонита при контаминации кормов токсичными элементами / Е. И. Куршакова, И. Р. Кадиков, Д. Р. Сагдеев [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 2. – С. 49-54. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_2_49. – EDN QFNKSS.
 9. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И. П. Кондрахин [и др.] // справочник М.: Колос, 2004. – 520 с.
 10. Сагдеева, З. Х. Эффективность применения модифицированного сорбента в рационе цыплят-бройлеров при контаминации кормов экотоксикантами / З. Х. Сагдеева, Л. Е. Матросова, Э. И. Семенов, Р. Н. Файзрахманов, Д. Р. Сагдеев, О. В. Шлямина // Ветеринарный врач. – 2025. – № 4. – С. 39-43. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_39. – EDN FJNYFR.
 11. Geng H. X., Wang L. Cadmium: Toxic effects on placental and embryonic development // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2019. Vol. 67. Pp. 102–107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.02.006>
 12. Zakirova G. Sh. [et. all.] Fumaric and succinic acids derivatives efficiency in combination with silicon-containing enterosorbents // J. Pharm. Sci. Res. 2019. Vol. 11 (2). Pp. 575–578.

References

1. Galochkin, V. A. The problem of obtaining safe livestock products in ecologically unfavorable regions: biological prerequisites and possible solutions / V. A. Galochkin, A. V. Agafonova, V. P. Galochkina, G. G. Cherepanov // Problems of biology of productive animals. - 2014. - No. 3. - Pp. 5-36. - EDN SYCDQV.
2. Gizatullin, Ruslan Rafaelevich The effect of sodium sulfide on the natural resistance of the organism in case of poisoning of animals with salts of heavy metals: abstract of dis. ... candidate of biological sciences: 16.00.04 / Gizatullin Ruslan Rafaelevich; [Place of protection: Federal center for toxic. and radiation. safety of animals]. - Kazan, 2007. - 23 p.
3. Dorozhkin, V. I. Efficiency of pharmacological agents for reducing the negative impact of animal intoxication with cadmium and lead / V. I. Dorozhkin, G. I. Pavlenko, N. S. Pavlova, N. A. Brichko, D. A. Drozdov // Veterinary pharmacology, toxicology and radiobiology. - 2020. - No. 2 (34). - P. 255-262.

4. Zakirova, G. Sh. Efficiency of using fumaric and succinic acid salts in combined intoxication of rabbits / G. Sh. Zakirova, K. T. Ishmukhametov, V. R. Saitov, I. R. Kadikov // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic Sciences. - 2022. - Vol. 8, No. 3 (31). - P. 256-263. - DOI 10.30914/2411-9687-2022-8-3-256-263. - EDN OLZDLR.
5. Kadikov, I. R. Efficiency of complexing compounds under the influence of cadmium and lead on the body of white rats / I. R. Kadikov, D. I. Kurshakova, D. R. Sagdeev, E. K. Rakhmatullin, E. N. Mayorova, I. F. Vafin, A. A. Korchemkin // Veterinarian. - 2025. - No. 5. - P. 17-23. - DOI 10.33632/1998-698X_2025_5_17. - EDN SEHXXY.
6. Kadikov, I. R. Use of complexing drugs in experimental metallotoxicosis of white rats / I. R. Kadikov, E. I. Kurshakova, D. R. Sagdeev [et al.] // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. - 2025. - No. 3. - P. 165-169. - EDN YVUMSI.
7. Kurshakova, E. I. Therapeutic efficacy of antitoxic substances in experimental metallotoxicosis of white rats / E. I. Kurshakova, I. R. Kadikov, D. R. Sagdeev [et al.] // Current issues of clinical veterinary medicine: Collection of scientific papers based on the materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 150th anniversary of the Department of Therapy and Clinical Diagnostics with Radiology, Kazan, October 24, 2025. - Kazan: Kazan State Agrarian University, 2025. - Pp. 182-188. - EDN ZWNDWC.
8. Kurshakova, E. I. Use of a complex preparation based on modified bentonite in case of feed contamination with toxic elements / E. I. Kurshakova, I. R. Kadikov, D. R. Sagdeev [et al.] // Veterinary doctor. - 2025. - No. 2. - Pp. 49-54. - DOI 10.33632/1998-698X_2025_2_49. - EDN QFNKSS.
9. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics / I. P. Kondrakhin [et al.] // reference book M.: Kolos, 2004. - 520 p.
10. Sagdeeva, Z. Kh. Efficiency of using a modified sorbent in the diet of broiler chickens with feed contamination with ecotoxicants / Z. Kh. Sagdeeva, L. E. Matrosova, E. I. Semenov, R. N. Fayzrakhmanov, D. R. Sagdeev, O. V. Shlyamina // Veterinary doctor. - 2025. - No. 4. - P. 39-43. - DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_39. - EDN FJNYFR.
11. Geng H. X., Wang L. Cadmium: Toxic effects on placental and embryonic development // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2019. Vol. 67. pp. 102-107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.02.006>
12. Zakirova G. Sh. [et. all.] Fumaric and succinic acids derivatives efficiency in combination with silicon-containing enterosorbents // J. Pharm. Sci. Res. 2019. Vol. 11(2). Rr. 575-578.

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 04.02.2026;

© Куршакова Е. И., Кадиков И. Р., Сагдеев Д. Р., Рахматуллин Э. К., Вафин И. Ф., Майорова Е. Н., Корчемкин А. А. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 22 – 26
The Veterinarian. 2026; (2): 22 – 26

Научная статья
УДК 619:615.918
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_22

ВЛИЯНИЕ АНТИТОКСИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИНОВ *FUSARIUM*

Наиля Наримановна Мишина, кандидат биологических наук, *mishinanailyan@yandex.ru*
Лилия Евгеньевна Матросова, доктор биологических наук, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*
Анастасия Владимировна Софронова, кандидат биологических наук, *anastaciaa349ot116@mail.ru*
Ольга Константиновна Ермолаева, кандидат биологических наук, *ermolao@list.ru*
Светлана Анатольевна Танасева, кандидат биологических наук, *s-tanaseva@mail.ru*
Элина Илгизовна Идрисова, *elina.idrisova82@mail.ru*
Марина Александровна Ерохондина, *m.erohondina@gmail.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Наиля Наримановна Мишина.

Аннотация. Воздействие микотоксинов вызывает поражения желудочно-кишечного тракта и изменения кишечного биоценоза. Целью нашей работы было изучение влияния антитоксической сыворотки на кишечный биоценоз белых крыс при воздействии фузариотоксинов. Опыты проведены на 36 белых крысах, разделённых на 6 групп по принципу аналогов. Первая группа служила биологическим контролем, животные получали комбикорм, не содержащий микотоксины. Вторая группа (токсический контроль), получали комбикорм с добавлением Т-2 токсина – 0,2 мг/кг, дезоксиниваленола – 2 мг/кг, зеараленона – 2 мг/кг, фумонизина В1 – 10 мг/кг. Белым крысам третьей группы, на фоне введения микотоксинов *Fusarium*, на 1, 7 и 14-е сутки внутримышечно вводили лечебную сыворотку в дозе 0,3 см³ на килограмм массы тела. Четвертая группа животных получала сыворотку по такой же схеме, без введения токсинов. Продолжительность эксперимента составила 30 суток. В конце эксперимента крыс забивали декапитацией, отбирали содержимое толстого отдела кишечника для микробиологического анализа. Микотоксикоз характеризовался нарушением качественного и количественного состава кишечного микробиоценоза. Количество лактобактерий, бифидобактерий, эшерихий с нормальной ферментативной активностью было ниже, чем у биологического контроля на 36,3 % ($p<0,001$), 37,0 % ($p<0,001$) и 52,5 % ($p<0,001$). В образцах были выявлены дрожжевые грибы, *E. coli* с гемолитической активностью и стафилококки. Внутримышечное введение антитоксической сыворотки на фоне токсичного корма положительно влияло на кишечный биоценоз. Использование антитоксической сыворотки с основным рационом не сопровождалось качественными и количественными изменениями микрофлоры кишечника.

Ключевые слова: микотоксины, *Fusarium*, кишечник, биопрепараты, микрофлора белые крысы

Для цитирования: Мишина Н. Н., Матросова Л. Е., Софронова А. В., Ермолаева О. К., Танасева С. А., Идрисова Э. И., Ерохондина М. А. Влияние антитоксической сыворотки на микрофлору кишечника белых крыс при воздействии токсинов *Fusarium* // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 22 – 26. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_22

EFFECT OF ANTITOXIC SERUM ON THE INTESTINAL MICROFLORA OF WHITE RATS EXPOSED TO *FUSARIUM* TOXINS

Nailya N. Mishina, Candidate of Biological Sciences, *mishinanailyan@yandex.ru*
Lilia E. Matrosova, Doctor of Biological Sciences, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*
Anastasia V. Sofronova, Candidate of Biological Sciences, *anastaciaa349ot116@mail.ru*
Olga K. Ermolaeva, Candidate of Biological Sciences, *ermolao@list.ru*

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

Elina I. Idrisova, *elina.idrisova82@mail.ru*

Marina A. Eroxondina, *m.erxondina@gmail.ru*

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

Corresponding author: Nailya Narimanovna Mishina

Abstract. Mycotoxin exposure causes gastrointestinal damage and alters the intestinal biocenosis. The aim of our study was to investigate the effect of antitoxic serum on the intestinal biocenosis of white rats exposed to fusariotoxins. Experiments were conducted on 36 white rats, divided into six groups based on the analog principle. The first group served as a biological control; the animals received feed that did not contain mycotoxins. The second group (toxic control) received compound feed supplemented with T-2 toxin (0.2 mg/kg), deoxynivalenol (2 mg/kg), zearalenone (2 mg/kg), and fumonisin B1 (10 mg/kg). White rats in the third group, while receiving *Fusarium* mycotoxins, were given therapeutic serum intramuscularly at a dose of 0.3 cm³ per kilogram of body weight on days 1, 7, and 14. The fourth group of animals received serum according to the same protocol, without the introduction of toxins. The experiment lasted 30 days. At the end of the experiment, the rats were killed by decapitation, and the contents of the large intestine were collected for microbiological analysis. Mycotoxicosis was characterized by a violation of the qualitative and quantitative composition of the intestinal microbiocenosis. The number of lactobacilli, bifidobacteria, and *Escherichia coli* with normal enzymatic activity was lower than that of the biological control by 36.26% ($p < 0.001$), 37.06% ($p < 0.001$), and 52.5% ($p < 0.001$). Yeast fungi, hemolytic *E. coli*, and staphylococci were detected in the samples. Intramuscular administration of antitoxic serum against the background of toxic feed had a positive effect on the intestinal biocenosis. The use of antitoxic serum with the main diet was not accompanied by qualitative and quantitative changes in the intestinal microflora.

Keywords: mycotoxins, *Fusarium*, intestines, biological products, microflora of white rats

Введение. Микотоксины — токсичные вторичные метаболиты, вырабатываемые плесневыми грибами, как в поле, так и во время хранения сельскохозяйственной продукции. Они представляют серьёзную угрозу для кормов, продуктов питания и здоровья людей и животных по всему миру [1]. Среди наиболее опасных микотоксинов — трихотецены, зearаленон и фумонизины, которые вырабатывают грибы рода *Fusarium* [2].

Среди трихотеценов токсин Т-2 (тип А) обладает широким спектром биологической активности. Он может проникать в организм разными путями и вызывать разнообразные токсические эффекты в различных тканях и органах. Хроническое отравление Т-2 токсином может привести к системным нарушениям, в том числе к повреждению слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, угнетению кроветворения и иммунной дисфункции [3-5].

Дезоксиниваленол (трихотеценовый токсин типа В) — один из наиболее часто встречающихся микотоксинов в зерновых культурах по всему миру. После попадания в организм дезоксиниваленол быстро всасывается в общий кровоток, где оказывает отрицательное воздействие на ткани кишечника и физиологию в целом. К негативным последствиям воздействия дезоксиниваленола относятся снижение живой массы, повышение смертности, увеличение проницаемости кишечника для микроорганизмов и эндотоксинов, уменьшение высоты ворсинок и усиление окислительного стресса. Степень выраженности негативных последствий зависит от количества попавшего в организм токсина и продолжительности его воздействия [6].

На сегодняшний день известно 28 аналогов фумонизина. Среди них фумонизин В1 выделяется как наиболее значимый из-за своей распространённости и высокой токсичности среди всех изомеров. Этот токсин вызывает серьёзные проблемы у животных: у лошадей — лейкоэнцефаломалицию, у свиней — отёк лёгких и гидроторакс, а у крыс и кроликов — нефро- и гепатотоксичность.

Зearаленон, нестероидный микотоксин, содержится в основном в зерновых культурах, в частности в ячмене, кукурузе, овсе, рисе, пшенице и сорго, а также в продуктах, связанных с ними. Относится к канцерогенам 3-й группы [7-8].

Кишечник не только переваривает и всасывает питательные вещества, но и служит первым защитным барьером организма, предотвращая попадание ксенобиотиков и патогенных микроорганизмов. В последние годы учёные всё больше изучают роль кишечной микрофлоры в различных заболеваниях. Поддержание здоровой работы кишечника важно для общего здоровья и продуктивности животных [9]. Изменения в кишечной флоре после отравлений привлекли особое внимание исследо-

вателей. Было установлено, что микотоксины нарушают состав микробиоты, сокращая разнообразие микроорганизмов [10].

Цель исследований – оценка влияния антитоксической сыворотки на микрофлору кишечника белых крыс при воздействии токсинов *Fusarium*.

Материалы и методы. Работа выполнена на базе ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Объектами исследования являлись самцы и самки белых крыс, антитоксическая сыворотка для лечения и профилактики микотоксикозов животных и птиц, фузариотоксины. В каждой группе было по 6 животных обоего пола. Кормили животных полноценным комбикормом для мелких лабораторных грызунов.

Первая группа служила биологическим контролем, животные получали комбикорм, не содержащий микотоксины. Вторая группа (токсический контроль), получали комбикорм с добавлением Т-2 токсина – 0,2 мг/кг, дезоксиниваленола – 2 мг/кг, зеараленона – 2 мг/кг, фумонизина В1 – 10 мг/кг. Белым крысам третьей группы, на фоне введения микотоксинов *Fusarium*, на 1, 7 и 14-е сутки внутримышечно вводили лечебную сыворотку в дозе 0,3 см³ на килограмм массы тела. Четвертая группа животных получала сыворотку по такой же схеме, без введения токсинов. Продолжительность эксперимента составила 30 суток.

В конце эксперимента крыс забивали декапитацией, отбирали содержимое толстого отдела кишечника для микробиологического анализа. В ходе исследований определяли количественное соотношение микроорганизмов нормальной микрофлоры, условно-патогенных и патогенных бактерий, дрожжеподобных грибов (КОЕ/г - колониеобразующих единицах на грамм). Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере в программах Statistica 6.0 и MS Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты количественного исследования представителей нормальной микрофлоры кишечника белых крыс при фузариотоксикозе на фоне применения антитоксической сыворотки представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание нормальной микрофлоры в толстом отделе кишечника белых крыс при фузариотоксикозе на фоне применения антитоксической сыворотки

№ группы	Показатель, lg КОЕ/г		
	Лактобактерии	Бифидобактерии	Эшерихии с нормальной ферментативной активностью
1	5,13±0,08	7,34±0,04	6,13±0,05
2	3,27±0,13***	4,62±0,08***	2,91±0,02***
3	4,41±0,12	6,02±0,08*	4,76±0,02**
4	5,82±0,02	7,87±0,07	6,42±0,04
*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 в сравнении с биологическим контролем			

Микотоксикоз характеризовался нарушением качественного и количественного состава кишечного микробиоценоза. Количество лактобактерий, бифидобактерий, эшерихий с нормальной ферментативной активностью было ниже, чем у биологического контроля на 36,26 % (p<0,001), 37,06 % (p<0,001) и 52,5 % (p<0,001).

Таблица 2 – Содержание условно-патогенной микрофлоры в толстом отделе кишечника белых крыс при фузариотоксикозе на фоне применения антитоксической сыворотки

№ группы	Показатель, lg КОЕ/г				
	Дрожжевые грибы	Сальмонеллы	Протеи	Гемолитические эшерихии	Стафилококки
1	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.
2	4,83±0,04	не обн.	не обн.	4,73±0,05	5,46±0,02
3	един.	не обн.	не обн.	един.	не обн.
4	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.

При введении с токсичным кормом антитоксической сыворотки количество лактобактерий, бифидобактерий, эшерихий с нормальной ферментативной активностью было ниже, чем у биологи-

ческого контроля на 14,04 %, 17,98 % ($p < 0,05$) и 22,3 % ($p < 0,01$). Изменения в кишечном биоценозе при воздействии микотоксинов связаны с ухудшением барьерной функции кишечника, что снижает его роль в защите от патогенных микроорганизмов. Результаты исследования условно-патогенной микрофлоры кишечника белых при фузариотоксикозе на фоне применения антитоксической сыворотки представлены в таблице 2.

В образцах содержимого кишечника животных группы токсического контроля были выявлены дрожжевые грибы в количестве $4,83 \pm 0,04$ lg КОЕ/г, гемолитические эшерихии - $4,73 \pm 0,05$ lg КОЕ/г, золотистый стафилококк - $5,46 \pm 0,02$ lg КОЕ/г. У белых крыс третьей группы были обнаружены единичные дрожжевые грибы и гемолитические эшерихии. Во всех исследуемых образцах протей и сальмонеллы не обнаружены. Использование антитоксической сыворотки с основным рационом не сопровождалось качественными и количественными изменениями микрофлоры кишечника.

Заключение. Проведенные исследования показали, что длительное воздействие исследуемых Т-2 токсина, дезоксиниваленола, фумонизина В1 и зеараленона вызывает снижение количества лактобактерий, бифидобактерий эшерихий с нормальной ферментативной активностью, появление дрожжевых грибов, *E. coli* с гемолитической активностью и стафилококки. Внутримышечное введение антитоксической сыворотки на фоне токсичного корма положительно влияло на кишечный биоценоз.

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. Влияние микотоксинов на переваримость питательных веществ у кроликов / А. И. Самсонов, Н. А. Балакирев, Е. Н. Майорова [и др.] // *Кролиководство и звероводство*. – 2024. – № 6. – С. 36-44. – DOI 10.52178/00234885_2024_6_36.
3. Meng F. Toxic effects of subchronic T-2 toxin exposure on systemic immune deficiency in developing juvenile rats / F. Meng., J. Zhou., H. Wang [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2025. – Т. 302. – С. 118653.
4. Сагдеев Д.Р. Токсичность свинца и Т-2 токсина при их совместном поступлении в организм животных / Сагдеев Д.Р. // *Ветеринарный врач*. – 2021. – №6. – С. 61-65. DOI: 10.33632/1998-698X.2021-6-61-66.
5. Хасиятуллин, А. Ф. Сравнительная оценка адсорбции Т-2 токсина хитинглюканом и минералами / А. Ф. Хасиятуллин, Ф. Р. Вафин // *Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК : Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, профессора И.Н. Никитина, Казань, 28–29 марта 2024 года*. – Казань: Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана.- 2024. – С. 332-334.
6. 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.
7. Изучение защитного действия профилактических комплексов на ультраструктуру гепатоцитов кроликов при сочетанном микотоксикозе / Е. Ю. Тарасова, Г.С. Кашеваров, В. Р. Саитов [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2023. – № 1. – С. 57–63. doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_57
8. Pourmohammadi K. Determining the adsorption capacity and stability of Aflatoxin B1, Ochratoxin A, and Zearalenon on single and co-culture *L. acidophilus* and *L. rhamnosus* surfaces / K. Pourmohammadi, M. Sayadi, E. Abedi [et al.] // *Journal of food composition and analysis*. – 2022. – Т. 110. – С. 104517.
9. The frequency of ulcerative processes in the gastric mucosa of pigs caused by exposure to mycotoxins and colonization by bacteria of the genus *Helicobacter* / F. M. Nurgaliev, E. I. Semenov, O. K. Pozdeev, P. V. Sofronov // *The Veterinarian*. – 2020. – No. 2. – pp. 31-38. – DOI 10.33632/1998-698X.2020-2-31-38. – EDN FWEMUV.
10. In vitro adsorption-desorption of aflatoxin B1 on Pepper's lignins isolated from grassy plants / A. P. Karmanov, A. V. Kanarsky, Z. A. Kanarskaya [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2020. – Vol. 144. – P. 111-117. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.081. – EDN BRZBOR.

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. The influence of mycotoxins on the digestibility of nutrients in rabbits / A.I. Samsonov, N.A. Balakirev, E.N. Mayorova [et al.] // *Rabbit breeding and animal husbandry*. – 2024. No. 6. – P. 36-44.
3. Meng F. Toxic effects of subchronic T-2 toxin exposure on systemic immune deficiency in developing juvenile rats / F. Meng., J. Zhou., H. Wang [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2025. – T. 302. – C. 118653.
4. Sagdeev D.R. Toxicity of lead and T-2 toxin when they enter the animal body together / Sagdeev D.R. // *Veterinarian*. – 2021. – No. 6. – P. 61-65. DOI: 10.33632/1998-698X.2021-6-61-66.
5. Khasiyatullin, A. F. Comparative assessment of the adsorption of T-2 toxin by chitinyglycan and minerals / A. F. Khasiyatullin, F. R. Vafin // *Youth developments and innovations in solving priority problems of the agro-industrial complex: Proceedings of the International Scientific Conference of Students, Post-graduates and Young People, Professor I. N. Nikitin, Kazan, March 28–29, 2024*. – Kazan: Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman.- 2024. – P. 332–334.
6. The effect of the combined action of mycotoxins and ionizing radiation on allergic sensitization / E. I. Semenov, N. N. Mishina, A. R. Valiev [et al.] // *The Veterinarian*. – 2023. – № 2. – pp. 60-69. – DOI 10.33632/1998-698X_2023_2_60.
7. Study of the protective effect of prophylactic complexes on the ultrastructure of rabbit hepatocytes with combined mycotoxicosis / E. Yu. Tarasova, G.S. Kashevarov, V. R. Saitov [et al.] // *Veterinary doctor*. – 2023. – No. 1. – P. 57-63. doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_57
8. Pourmohammadi K. Determining the adsorption capacity and stability of Aflatoxin B1, Ochratoxin A, and Zearalenon on single and co-culture *L. acidophilus* and *L. rhamnosus* surfaces / K. Pourmohammadi, M. Sayadi, E. Abedi [et al.] // *Journal of food composition and analysis*. – 2022. – T. 110. – C. 104517.
9. The influence of a complex sorbent in the diet on the microbiocenosis of broiler chickens with mycotoxicosis / A. V. Sofronova, N. N. Mishina, O. K. Ermolaeva [et al.] // *Veterinary doctor*. – 2025. – No. 2. – P. 37-42. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_2_37.
10. The role of saprophytic and opportunistic microorganisms in the emergence and spread of opportunistic infections in cattle / D. A. Khuzin, S. A. Yusupov, A. I. Eroshin [et al.] // *Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*. – 2022. – Vol. 252, No. 4. – P. 267-272. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_252_267. – EDN FUDWCO.

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 03.02.2026;

© Мишина Н. Н., Матросова Л. Е., Софронова А. В., Ермолаева О. К., Танасева С. А., Идрисова Э. И, Ерохондина М. А. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 27 – 33
The Veterinarian. 2026; (2): 27 – 33

Научная статья

УДК 543.21:543.544.5.068.7:635-2

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_27

ОЦЕНКА СООТВЕТСТВИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ТРЕБОВАНИЮ ТЕХНИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТА ТАМОЖЕННОГО СОЮЗА «О БЕЗОПАСНОСТИ ЗЕРНА»

Альбина Александровна Саматова, *albinasamatova27@gmail.com*

Айсылу Завдатовна Мухарлямова, кандидат биологических наук, *muharlyamova82@mail.ru*

Оксана Викторовна Шлямина, кандидат химических наук, *shlyamina@mail.ru*

Гульчачак Фирдинатовна Ахметзянова, *akhgulya0909@gmail.com*

Марина Юрьевна Галлямова, *marina_rb@inbox.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Альбина Александровна Саматова.

Аннотация. Зерновая культура - основной продукт питания, обеспечивающий более половины ежедневной нормы калорий. Оценка качества и безопасности зерновых культур является актуальным, поскольку позволяет выявить продукцию, не соответствующую требованиям НД, что представляет риск для здоровья потребителей. В данной работе проанализированы некоторые физико-химические параметры и показатели безопасности основных зерновых культур, таких как пшеница, ячмень, кукуруза, овес, рожь. Для проведения исследований применяли следующие аналитические методы: воздушно-тепловой, визуальный, ионометрический, фотоколориметрический, радиометрический, жидкостной и газовой хроматографии. С применением данных методов изучены показатели: влажность зерна, зараженность вредителями, загрязненность мертвыми насекомыми-вредителями, содержание вредных примесей, удельная активность искусственных радионуклидов, массовая доля бенз(а)пирена, остаточные количества 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и хлорорганических пестицидов. Результаты физико-химических испытаний показали, что основное количество образцов зерна, по определяемым показателям, соответствуют нормам. В одном образце пшеницы, поставляемой на кормовые цели, обнаружена зараженность клещом. Показатели удельной активности цезия-137 и стронция-90 во всех образцах не превысили предельно допустимые уровни. Согласно результатам хроматографических исследований все пробы зерна соответствовали требованиям, установленным нормативной документацией на данный продукт.

Ключевые слова: зерновые культуры, зерно, качество, безопасность

Для цитирования: Саматова А. А., Мухарлямова А. З., Шлямина О. В., Ахметзянова Г. Ф., Галлямова М. Ю. Оценка соответствия зерновых культур требованию технического регламента таможенного союза «О безопасности зерна» // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 27 – 33. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_27

ASSESSMENT OF CONFORMITY OF GRAIN CROPS WITH THE REQUIREMENTS OF THE TECHNICAL REGULATIONS OF THE CUSTOMS UNION "ON GRAIN SAFETY"

Albina A. Samatova, *albinasamatova27@gmail.com*

Aisylu Z. Mukharlyamova, Candidate of Biological Sciences, *muharlyamova82@mail.ru*

Oksana V. Shlyamina, Candidate of Chemical Sciences, *shlyamina@mail.ru*

Gulchachak F. Akhmetzyanova, *akhgulya0909@gmail.com*

Marina Yu. Gallyamova, *marina_rb@inbox.ru*

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

Corresponding author: Albina A. Samatova.

Abstract. Grain is a staple food that provides more than half of the daily calorie intake. The assessment of the quality and safety of grain crops is relevant because it allows us to identify products that do not meet the requirements of the Tax Code, which poses a risk to consumer health. In this paper, some physico-chemical parameters and safety indicators of major grain crops such as wheat, barley, corn, oats, rye are analyzed. The following analytical methods were used for the research: air-thermal, visual, ionometric, photo-colorimetric, radiometric, liquid and gas chromatography. Using these methods, the following indicators were studied: grain moisture, pest infestation, contamination with dead insect pests, the content of harmful impurities, the specific activity of artificial radionuclides, the mass fraction of benz(a)pyrene, residual amounts of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and organochlorine pesticides. The results of physico-chemical tests showed that the main number of grain samples, according to the determined indicators, comply with the standards. Mite infestation was detected in only one sample of wheat supplied for feed purposes. The specific activity values of caesium-137 and strontium-90 in all samples did not exceed the maximum permissible levels. According to the results of chromatographic studies, all grain samples met the requirements established by the ND for this product.

Keywords: grain crops, grain, quality, safety

Введение. Зерновые культуры являются основным сырьем для пищевой промышленности, оценка их качества и безопасности важна как для самой промышленности, так и для потребителей. Из зерновой культуры производят продукты питания, которые входят в ежедневный рацион многих людей: это хлеб, хлебобулочные и макаронные изделия, сухие завтраки, крупы и др., при этом главной задачей пищевой промышленности является обеспечение продовольственной безопасности.

В последнее время с целью укрепления здоровья в рационе увеличивают цельнозерновые продукты, к которым относят хлеб из муки грубого помола, макаронные изделия, бурый рис и др., оказывающие положительное влияние на работу различных систем организма включая желудочно-кишечный тракт, сердечно-сосудистую систему, состояние кожи, уровень сахара в крови и т.д. [1]. Также имеются сообщения [2], что клетчатка, содержащаяся в злаках, в отличие от фруктов и овощей, защищает организм от лишнего веса, способствует его снижению. Помимо этого, зерновые культуры являются основным источником энергии в рационах многих видов животных. Продуктивность животных зависит от обеспечения их организма всеми необходимыми питательными веществами. Влияние зерновых кормов на направленность обменных процессов позволяет наиболее сбалансированно и экономически целесообразно удовлетворять потребность животных в энергии, питательных, минеральных и биологически активных веществах [3, 4]. По данным Росстата на 2023 год зерновые и зернобобовые культуры достигли рекордных отметок и занимали порядка 48 млн га посевных площадей, то есть на их долю приходится более 50% всех пахотных земель, где рис, кукуруза, гречиха и сорго занимают значительное место.

Качество зерновых культур складывается из нескольких параметров: внешний вид (включая форму объекта, размер и цвет), наличие примесей и дефектных зерен, питательной ценности, характеризующейся количеством белков, жиров, углеводов, витаминов, минералов, крахмала и др. Безопасность зерна определяется содержанием грибковых токсинов, тяжелых металлов, радионуклидов и пестицидов. В техническом регламенте Таможенного Союза 015/2011 «О безопасности зерна» установлены требования на каждый вид зерновой культуры, указаны предельно допустимые уровни (ПДУ) содержания загрязняющих веществ. Превышение максимально установленной концентрации по какому-либо показателю для зерна не допускается. Таким образом, соответствие зерна ТР ТС 015/2011 - это гарант прохождения строгого контроля, позволяющий получить безопасный урожай [5, 6]. Целью данного исследования явилась оценка подтверждения соответствия зерновых культур ТР ТС 015/2011 по некоторым показателям.

Материалы и методы. Исследования проведены на базе Испытательного центра ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Были проведены исследования зерновых культур, поставляемых на пищевые и кормовые цели, включая 34 образца пшеницы, 17 - ячменя, 7 - овса, 19 - кукурузы и 6 - ржи выращенные на территории Республики Татарстан. Всего было проанализировано 83 образца.

Проводились исследования по физико-химическим показателям на содержание влаги в зерне (ГОСТ 13586.5-2015), зараженности вредителями (ГОСТ 13586.4-83, ГОСТ 13586.6-93), загрязненности мертвыми насекомыми-вредителями (ГОСТ 34165-2017), а также на наличие вредных примесей (ГОСТ 30483-97).

Оценку показателей безопасности проводили по определению удельной активности искусственных радионуклидов (Cs-137 и Sr-90), также содержанию бенз(а)пирена и пестицидов.

Анализ удельной активности Cs-137 и Sr-90 осуществляли на спектрометре-радиометре гамма- и бета-излучения МКГБ-01 «РАДЭК» (ООО «НТЦ «РАДЭК», Россия) согласно методике ФР.1.40.2018.31443.

Массовую долю бенз(а)пирена определяли в соответствии с ГОСТ Р 51650-2000 п.5, с применением жидкостного хроматографа «Agilent Infinity 1100» (Agilent Technologies, США) при флуориметрической детекции (ВЭЖХ-ФЛД) на обращено-фазной колонке с общим временем анализа 15 мин. Подготовку проб зерна на содержание хлорорганических пестицидов проводили по ГОСТ 31481-2012; на содержание гербицида 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) по МУ 1541-76 с применением диметилсульфата на стадии метилирования – на газожидкостном хроматографе «Хроматэк Кристалл 5000.2» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), снабженном детектором по захвату электронов (ГХ-ЭЗД).

Результаты исследований и их обсуждение. Влажность является одним из важных показателей качества зерна, из-за его влияния на интенсивность жизнедеятельности микроорганизмов (основной фактор порчи), и активность ферментов, благодаря чему можно спрогнозировать поведение культуры в процессе переработки или хранения. Диапазон полученных результатов по показателю влажность зерна, поступившего на исследование, представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон полученных результатов при определении влажности зерновых культур

Показатель, единица измерения	Зерновая культура				
	Пшеница	Ячмень	Кукуруза	Рожь	Овес
Влажность, %	10-14	11-14	10-14	11-13	9-12
Допустимый уровень, %	12-14	12-14	13-15	12-14	11-13

Согласно НД зараженность вредителями не допускается, кроме зерна, идущего на кормовые цели, где допускается зараженность клещом не выше 20 экз./кг. Зерно также может быть загрязнено мертвыми насекомыми вредителями, но не более 15 экз./кг. Такое послабление предельно допустимого уровня (ПДУ) сделано потому, что мертвых вредителей жуков можно легко отделить при очистке зерна, а зерновые клещи гибнут в сухом зерне с влажностью ниже 17%. Тем не менее, продукты жизнедеятельности насекомых и клещей остаются в зерне, что может вызывать аллергические реакции у человека.

Вредная примесь – это часть сорной примеси, которая не только отрицательно влияет на качество зерна и продуктов его переработки, но и делает их ядовитыми. К вредной примеси относят семена ядовитых сорняков (горчак ползучий, софоры лисохвостной, термопсиса ланцетного, вязеля разноцветного, плевела опьяняющего, гелиотропа опушенноплодного, триходесмы седой), зерна, пораженные головней, спорыньей, и фузариозные зерна [7]. Показатели зараженность вредителями, загрязненность мертвыми насекомыми-вредителями, содержание вредных примесей представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 – Результаты определения содержания вредных примесей и зараженности вредителями в злаковых культурах, поставляемых на пищевые цели

Наименование зерна	Наименование показателя	Допустимый уровень, %, не более	Результат исследований (среднее значение)
Пшеница	Спорынья	0,05	не обнаружено
	Горчак ползучий, софора лисохвостная, термопсис ланцетный (по совокупности)	не допускается	не обнаружено
	Вязель разноцветный	0,1	0,03
	Гелиотроп опушенноплодный	0,1	не обнаружено
	Триходесма седая	не допускается	не обнаружено
	Головневые (мараные, синегузочные) зерна	10,0	не обнаружено
	Фузариозные зерна	1,0	не обнаружено

Продолжение Таблицы 2

Рожь	Спорынья	0,05	0,02
	Горчак ползучий, вязель разноцветный (по совокупности)	не допускается	не обнаружено
	Гелиотроп опушенноплодный	0,1	не обнаружено
	Триходесма седая	не допускается	не обнаружено
	Софора лисохвостная, термопсис ланцетный (по совокупности)	0,1	не обнаружено
	Фузариозные зерна	1,0	не обнаружено
	Розовоокрашенные зерна	3,0	0,05
Овес	Горчак ползучий, термопсис ланцетный, спорынья и головня (по совокупности)	не допускается	не обнаружено
	Софора лисохвостная, вязель разноцветный (по совокупности)	0,02	не обнаружено
	Гелиотроп опушенноплодный и триходесма седая	не допускаются	не обнаружено
Кукуруза	Спорынья и головня	0,15	не обнаружено
	Горчак ползучий, софора лисохвостная, термопсис ланцетный (по совокупности)	не допускается	не обнаружено
	Вязель разноцветный	0,1	0,02
	Гелиотроп опушенноплодный	не допускается	не обнаружено
	Триходесма седая, семена клещевины	не допускаются	не обнаружено
	Наличие зерен с ярко желто-зеленой флуоресценцией	0,1	не обнаружено
Ячмень	Спорынья и головня	0,1	не обнаружено
	Горчак ползучий, софора лисохвостная, термопсис ланцетный, плевел опьяняющий, вязель разноцветный (по совокупности)	не допускается	не обнаружено
	Гелиотроп опушенноплодный и триходесма седая	не допускаются	не обнаружено
Пшеница, ячмень, овес, рожь, кукуруза	Зараженность вредителями	не допускается	не обнаружено
	Загрязненность мертвыми насекомыми-вредителями	15 экз./кг	2-10 экз./кг

Таблица 3 – Результаты определения содержания вредных примесей и зараженности вредителями в злаковых культурах, поставляемых на кормовые цели

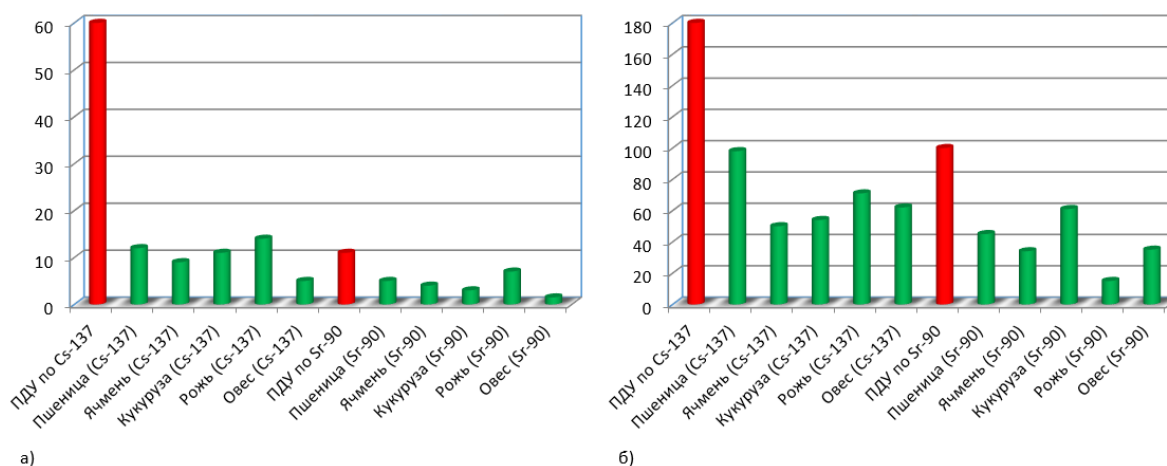
Наименование зерна	Наименование показателя	Допустимый уровень, %, не более	Результат исследований (среднее значение)
Пшеница, ячмень, овес, рожь	Куколь	0,5	0,12
Пшеница, ячмень, овес, рожь	Спорынья и головня (по совокупности)	0,1	не обнаружено
Кукуруза		0,15	не обнаружено
Пшеница, ячмень, рожь, кукуруза,	Горчак ползучий, вязель разноцветный (по совокупности)	не допускается	не обнаружено

Продолжение таблицы 3

Овес	Горчак ползучий, софора лисохвостная, вязель разноцветный (по совокупности)	не допускается	не обнаружено
Пшеница	Головневые (маранные, синегузочные) зерна	10,0	не обнаружено
Пшеница, ячмень, овес, рожь, кукуруза,	Гелиотроп опушенноплодный и триходесма седая	не допускаются	не обнаружено
Пшеница, ячмень, рожь	Фузариозные зерна	1,0	0,02
Пшеница, ячмень, овес, рожь, кукуруза	Зараженность вредителями	Не допускается, кроме зараженности клещом не выше 20 экз./кг	2-15 экз./кг (1 образец пшеницы более 20 экз./кг)

Результаты физико-химических испытаний, представленные в таблицах 1 - 3 показали, что основное количество образцов зерна, по определяемым показателям, соответствовали нормам. Только в одном образце пшеницы, поставляемой на кормовые цели, обнаружили зараженность клещом в количестве более 20 экз./кг. Следует отметить, что нельзя использовать зерно при сильном поражении вредителями, а значит, его нельзя и продать, что может привести к большим экономическим потерям. Ответственное отношение аграриев к требованиям ТР ТС 015/2011, направлено на обеспечение качества и безопасности зерна и является обязательным объектом государственного регулирования и контроля. Средние результаты радиометрического анализа по определению удельной активности Cs-137 и Sr-90 в образцах представлены на рисунке 1.

Рисунок 1 – Результаты определения показателя удельной активности цезия-137 и стронция-90 в испытуемых образцах зерна (а – продовольственное зерно, б – кормовое зерно), Бк/кг



Как видно из рисунка 1, показатели удельной активности образцов не превышают ПДУ активности искусственных радионуклидов, уровень которых согласно ТР ТС 015/2011 не должен превышать 60 Бк/кг по цезию-137 и 11 Бк/кг по стронцию-90 в зерне на пищевые цели (рис. 1а) и 180 Бк/кг по цезию-137 и 100 Бк/кг по стронцию-90 в кормовом зерне (рис. 1б). Испытуемые образцы являются безопасными в части содержания радионуклидов и могут быть использованы без ограничения. Среди детектируемых в условиях ГХ-ЭЗД анализа пестицидов рассмотрены: альфа и гамма-изомеры гексахлорциклогексана (ГХЦГ), также 4,4'-дихлордифенилтрихлорэтан (4,4'-ДДТ) и его метаболиты – 4,4'-дихлордифенилдихлор-этилен (4,4'-ДДЭ) и 4,4'-дихлордифенилдихлорэтан (4,4'-ДДД). Данные соединения относятся к группе стойких органических загрязнителей, которые, несмотря на запрет их применения, до сих пор выделяются в продуктах питания.

Таблица 4 – Результаты определения остаточных количеств пестицидов в зерне

Наименование зерна	Определяемый показатель	Допустимые уровни, мг/кг, не более	Найденное значение, мг/кг
Пшеница, ячмень, овес, рожь, кукуруза	Бенз(а)пирен	0,001	не обнаружено (менее 0,001)
	ГХЦГ (α , γ – изомера)	0,5	не обнаружено (менее 0,001)
	ДДТ и его метаболиты	0,02	не обнаружено (менее 0,007)
	2,4-Д	не допускаются	не обнаружено (менее 0,02)

Известно, что биоаккумуляция химических веществ в организме человека даже в ничтожно малых количествах может привести к тяжелым нарушениям здоровья, в связи, с чем необходимо контролировать их содержание в зерновых культурах. Например, для бенз(а)пирена доказаны гематологические эффекты, репродуктивная и внутриутробная токсичность, иммунотоксичность и канцерогенность [8]. Имеются сообщения о поражении печени, анемии, атрофии костного мозга, злокачественных новообразованиях и др. в результате действия хлорорганических пестицидов. Согласно результатам ГХ-ЭЗД анализа (таблица 4), остаточных количеств хлорорганических пестицидов и гербицида 2,4-Д, также полиароматического углеводорода бенз(а)пирена в исследуемых образцах не обнаружено, что указывает на безопасность данной зерновой культуры.

Заключение. Проведено исследование физико-химических параметров и показателей безопасности зерновых культур, включая пшеницу, ячмень, рожь, овес и кукурузу. Изучали влажность зерна, зараженность вредителями, загрязненность мертвыми насекомыми-вредителями, содержание вредных примесей, удельную активность искусственных радионуклидов, массовую долю бенз(а)пирена, остаточные количества 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и хлорорганических пестицидов. Согласно полученным результатам изучаемые показатели находились на уровне менее ПДК, лишь один образец пшеницы кормовой показал зараженность клещом выше допустимого уровня.

Список источников

1. Казакова В. В. Комплексная оценка качества зерна озимой пшеницы для изготовления цельнозернового хлеба / В. В. Казакова, В. С. Казакова, М. М. Сазоненко // ДОСТИЖЕНИЯ ВУЗОВСКОЙ науки 2021: сборник статей XVII Международного научно-исследовательского конкурса, Пенза, 20 января 2021 года. – Пенза: "Наука и Просвещение" (ИП Гуляев Г.Ю.), 2021. – С. 19-21.
2. The grain derived fiber, rather than fruit or vegetable fiber, is protective against weight gain / A. D. Liese, A. K. Roach, K. C. Sparks, L. Marquart, R.B. Jr. D'Agostino, E. J. Mayer-Davis // Am. J. Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 78. – P. 965–971.
3. Мухарлямова А.З. Определение уровня загрязнения кормов афлатоксином В1 / А. З. Мухарлямова // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2023. – Т. 9, № 2(34). – С. 162-167.
4. Саматова А.А. Исследование питательной ценности и безопасности кормов, произведенных из отходов спиртовых производств / А. А. Саматова, А. Р. Макаева, З. Д. Муртазина, О. В. Шлямина // Ветеринарный врач. – 2021. – № 2. – С. 50-54.
5. Ишмухаметов К.Т. Радиационно-экологический мониторинг в Республике Татарстан / К. Т. Ишмухаметов Г. И. Рахматуллина, К. Н. Вагин, Р. Р. Гайнуллин, Я.М. Курбангалеев, Э. М. Плотникова, А. В. Фролов, М. Ю. Галлямова // Ветеринарный врач. – 2025. – № 1. – С. 85-102.
6. Кретьова Ю. И., Цирульниченко Л. А. Обеспечение качества зерна как фактор решения проблемы продовольственной безопасности Российской Федерации: нормативно-правовые аспекты / Ю. И. Кретьова, Л. А. Цирульниченко // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2019. – Т. 7, № 3. – С. 85-92.
7. Агапкин А.М. Доброкачественность, или пищевая безвредность, продуктов // Вестник РАЭ имени Г.В.Плеханова – 2016. – № 6(90). – С. 183–189.

8. Validation of an analytical method for determination of benzo[a]pyrene bread using QuEChERS method by GC-MS / Eslamizad S, Yazdanpanah H, Javidnia K et al // Iran J Pharm Res. – 2016. – Spring; 15(2). – P. 465-74.

References

1. Kazakova V. V. Comprehensive assessment of the quality of winter wheat grain for the production of whole grain bread / V.V. Kazakova, V.S. Kazakova, M.M. Sazonenko // ACHIEVEMENTS OF UNIVERSITY Science 2021 : collection of articles of the XVII International Scientific Research Competition, Penza, January 20, 2021. Penza: "Science and Education" (IP Gulyaev G.Yu.), 2021. – P. 19-21.
2. The grain derived fiber, rather than fruit or vegetable fiber, is protective against weight gain / A.D. Liese, A.K. Roach, K.C. Sparks, L. Marquart, R.B. Jr. D'Agostino, E.J. Mayer-Davis // Am. J. Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 78. – P. 965–971.
3. Mukharlyamova A. Z. Determination of the level of feed contamination with aflatoxin B1. Vestnik of the Mari State University. Chapter "Agriculture. Economics", 2023, vol. 9, no. 2, pp. 162–167.
4. Samatova. A.A. Study of the nutritional value and safety of feed produced from alcohol production waste/ A.A. Samatova, A.R. Makaeva, Z.D. Murtazina, O.V. Shlyamina // Veterinarian. 2021. №2. P.50-54.
5. Ishmukhametov K.T. Radiation and environmental monitoring in the Republic of Tatarstan / K.T. Ishmukhametov, G.I. Rakhmatullina, K.N. Vagin, R.R. Gainullin, Ya.M. Kurbangaleev, E.M. Plotnikova, A.V. Frolov, M.Yu. Gallyamova // The Veterinarian. – 2025. – No. 1. – P. 85-102.
6. Kretova Yu. I., Tsirol'nichenko L. A. Grain quality control as a factor of solving the problem of food security in the russian federation: regulatory and legal aspects // Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and biotechnology. – 2019. – Vol. 7, No. 3. – P. 85-92.
7. Agapkin A.M. The goodness, or food harmlessness, of products // Bulletin of the Plekhanov Russian Academy of Natural Sciences – 2016. – № 6(90). – P. 183-189.
8. Validation of an analytical method for determination of benzo[a]pyrene bread using QuEChERS method by GC-MS / S. Eslamizad, H. Yazdanpanah, K. Javidnia et al // Iran J Pharm Res. – 2016. – Spring;15(2). – P. 465-74.

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 19.02.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 34 – 39
The Veterinarian. 2026; (2): 34 – 39

Научная статья

УДК 619.615.2/661.155.3

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_34

ВЛИЯНИЕ МАЛОСЛОЙНОГО ГРАФЕНА НА МАССУ ТЕЛА И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФУЗАРИОТОКСИКОЗЕ БЕЛЫХ КРЫС

Эдуард Ильясович Семёнов ¹, доктор ветеринарных наук, semyonovei@bk.ru

Наиля Наримановна Мишина ¹, кандидат биологических наук, mishinanailyan@yandex.ru

Алексей Александрович Возняковский ², кандидат химических наук, alexey_inform@mail.ru

Алмаз Рафаильевич Валиев ¹, кандидат биологических наук, varalmaz@yandex.ru

Фаниль Рафаэлевич Вафин ¹, кандидат биологических наук, vafin.fr@mail.ru

Анастасия Владимировна Софронова ¹, кандидат биологических наук, anastaciaa349ot116@mail.ru

Иван Михайлович Коваль ¹, ivan.mailbox321@mail.ru

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

² Физико-технический институт имени А. Ф. Иоффе Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация. Микотоксины, продуцируемые микроскопическими грибами рода *Fusarium*, представляют значительную угрозу для здоровья, благополучия и продуктивности сельскохозяйственных животных во всём мире. Комбинированное воздействие фузариотоксинов характеризуется выраженной политоксичностью и приводит к множественным нарушениям функции жизненно важных органов и систем. Поиск эффективных, безопасных и доступных средств профилактики и коррекции микотоксикозов остаётся одной из наиболее актуальных задач современной ветеринарной науки и практики. Развитие нанотехнологий обусловило появление новых материалов, обладающих большой активной поверхностью, что открыло новые возможности в разработке средств детоксикации микотоксинов. Перспективным направлением является применение малослойных графенов (МГ). Они характеризуются высокой адсорбционной ёмкостью и в потенциале способны связывать органические молекулы различных типов токсинов за счёт развитой удельной поверхности и системы пор, потенциально превосходя по эффективности традиционные адсорбенты. Однако вопрос о безопасности и влиянии МГ на животных при использовании в биомедицинских целях является недостаточно изученным. Целью исследования была оценка влияния малослойного графена (МГ) полученного новым способом - путем самораспространяющегося высокотемпературного синтеза из природных биополимеров на показатели роста и гематологические параметры лабораторных крыс при экспериментальном микотоксикозе, вызванном комбинированной контаминацией кормов фузариотоксинами (Т-2 токсин, зеараленон, дезоксиниваленон, фумонизин В1). В исследовании использовали 40 белых крыс (распределены на 4 группы по 10 особей) с начальной живой массой 119–125 г. Продолжительность эксперимента составила 30 дней. МГ вводили в составе полноценного комбикорма в количестве 0,05 % от суточного рациона. Установлено, что комбинированная интоксикация приводила к достоверному снижению прироста живой массы на 57 % ($p < 0,05$), количества эритроцитов на 11,8 % ($p < 0,05$), уровня гемоглобина на 11,9 % ($p < 0,05$) и тромбоцитов на 35,4 % ($p < 0,05$), по сравнению с биологическим контролем. Применение МГ на фоне интоксикации способствовало частичному восстановлению гематологических показателей: уровни эритроцитов и гемоглобина были достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе токсического контроля. Отсутствие негативного влияния испытанного образца МГ на картину крови интактных животных свидетельствует о возможности его безопасного применения. Полученные данные свидетельствуют о протекторном действии МГ при комбинированном микотоксикозе и обосновывают целесообразность его дальнейшего изучения в качестве энтеросорбента.

Ключевые слова: малослойный графен, фузариотоксины, Т-2 токсин, зеараленон, дезоксиниваленон, фумонизин В1, микотоксикоз, живая масса, крысы

Для цитирования: Семёнов Э. И., Мишина Н. Н., Возняковский А. А., Валиев А. Р., Вафин Ф. Р., Софронова А. В., Коваль И. М. Влияние малослойного графена на массу тела и гематологические показатели крови при экспериментальном фузариотоксикозе белых крыс // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 34 – 39. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_34

EFFECT OF LOW-LAYER GRAPHENE ON BODY WEIGHT AND HEMATOLOGICAL BLOOD PARAMETERS IN EXPERIMENTAL FUSARIOTOXICOSIS IN WHITE RATS

Eduard I. Semenov¹, doctor of veterinary sciences

Nailya N. Mishina¹, candidate of biological sciences, *mishinanailyan@yandex.ru*

Alexey A. Voznyakovsky², candidate of chemical sciences, *alexey_inform@mail.ru*

Almaz R. Valiev¹, candidate of biological sciences, *varalmaz@yandex.ru*

Fanil R. Vafin¹, candidate of biological sciences, *vafin.fr@mail.ru*

Anastasia V. Sofronova¹, candidate of biological sciences, *anastaciaa349ot116@mail.ru*

Ivan M. Koval¹, *ivan.mailbox321@mail.ru*

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

² A. F. Ioffe Physical-Technical Institute, Saint Petersburg, Russian Federation

Abstract: Mycotoxins produced by microscopic fungi of the genus *Fusarium* pose a significant threat to the health, welfare, and productivity of farm animals worldwide. The combined effects of fusarium toxins are characterized by pronounced polytoxicity and lead to multiple dysfunctions of vital organs and systems. The search for effective, safe, and affordable means of preventing and correcting mycotoxicoses remains one of the most pressing challenges in modern veterinary science and practice. Advances in nanotechnology have led to the emergence of new materials with a large active surface area, opening up new possibilities for the development of mycotoxin detoxification agents. A promising approach is the use of few-layer graphenes (FLG). They are characterized by high adsorption capacity and have the potential to bind organic molecules of various types of toxins due to their developed specific surface area and pore system, potentially outperforming traditional adsorbents in efficiency. However, the safety and impact of MG on animals when used for biomedical purposes remains understudied. The aim of the study was to evaluate the impact of few-layer graphene (FG) produced by a new method—self-propagating high-temperature synthesis from natural biopolymers—on the growth performance and hematological parameters of laboratory rats subjected to experimental mycotoxicosis caused by combined feed contamination with fusariotoxins (T-2 toxin, zearalenone, deoxynivalenol, fumonisin B1). Forty albino rats (divided into four groups of 10) with an initial body weight of 119–125 g were used in the study. The experiment lasted 30 days. FG was administered as part of a complete feed at a rate of 0.05% of the daily ration. It was established that combined intoxication resulted in a reliable decrease in live weight gain by 57% ($p < 0.05$), the number of erythrocytes by 11.8% ($p < 0.05$), the hemoglobin level by 11.9% ($p < 0.05$) and platelets by 35.4% ($p < 0.05$), compared to the biological control. The use of MG against the background of intoxication contributed to a partial restoration of hematological parameters: the levels of erythrocytes and hemoglobin were significantly higher ($p < 0.05$) than in the toxic control group. The absence of a negative effect of the tested MG sample on the blood picture of intact animals indicates the possibility of its safe use. The obtained data indicate a protective effect of MG in combined mycotoxicosis and substantiate the advisability of its further study as an enterosorbent.

Keywords: few-layer graphene, fusariotoxins, T-2 toxin, zearalenone, deoxynivalenol, fumonisin B1, mycotoxicosis, live weight, rats

Введение. Фузариотоксины являются одними из наиболее опасных и распространенных контаминантов кормов, в особенности опасно их комбинированное присутствие [1, 2], особенно в условиях умеренного климата [3, 4]. При комбинированном поступлении, эти токсины характеризуются выраженной токсичностью и оказывают политоксическое действие на организм животных, приводя к нарушениям функций органов и систем [5, 6]. Поражение организма при микотоксикозе проявляется в снижении аппетита, угнетении общего состояния и резком падении продуктивности животных, что приводит к ухудшению качества продукции [7]. Микотоксины оказывают угнетающее действие на процессы кроветворения, приводя к гематологическим нарушениям [8].

Развитие нанотехнологий обусловило появление новых материалов, обладающих большой активной поверхностью, что открыло новые возможности в разработке средств детоксикации микотоксинов [9]. Перспективным направлением является применение малослойных графенов (МГ). Они

характеризуются высокой адсорбционной ёмкостью и способны связывать органические молекулы различных типов токсинов за счёт развитой удельной поверхности и системы пор, потенциально превосходя по эффективности традиционные адсорбенты [10, 11]. Однако вопрос о безопасности и влиянии МГ на животных при использовании в биомедицинских целях является недостаточно изученным [12]. Поэтому исследования, направленные на установление принципиальной возможности использования МГ, в том числе для защиты организма от микотоксинов имеют немаловажное значение.

Целью настоящего исследования была оценка влияния МГ на показатели прироста живой массы и гематологические параметры при экспериментальном микотоксикозе у крыс, вызванном комбинированной смесью фузариотоксинов

Материалы и методы. Было сформировано 4 группы самцов нелинейных белых крыс, по 10 особей в каждой, с начальной массой тела 119 – 125 г. Первая группа животных служила биологическим контролем (БК) и получала основной рацион (ОР) - полнорационный комбикорм свободный от микотоксинов и адсорбента. Вторая группа животных получала ОР с добавлением МГ в количестве 0,05 % от массы корма (БК+МГ). Третья группа животных получала токсичный рацион - основной рацион, загрязнённый комбинированной смесью фузариотоксинов (Т-2 токсин, зеараленон, дезоксиниваленон, фумонизин В1) в дозе 2 ПДК, без адсорбента (ТК). Четвёртая группа получала корм, комбинированный смесью фузариотоксинов в дозе 2 ПДК, с МГ 0,05 % от массы корма (ТК+МГ). Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к корму и воде. Продолжительность эксперимента составила 30 дней. Для исследований использовали образец МГ, полученный путем самораспространяющегося высокотемпературного синтеза из биополимеров [13], представляющий собой порошок черного цвета и состоящий из частиц толщиной 10–100 нм (2-5 слоев графена).

Загрязнение кормов проводилось искусственным способом: к стандартному комбикорму добавляли стандартизированную смесь чистых микотоксинов в рассчитанных количествах, обеспечивающих конечную дозу, равную 2 ПДК. Равномерность распределения микотоксинов обеспечивали путем ступенчатого перемешивания корма. Ежедневно регистрировали общее состояние животных, поведение и интенсивность потребления корма и воды. Массу тела животных определяли в начале и в конце эксперимента, рассчитывали абсолютный прирост живой массы за весь период наблюдения. В конце эксперимента животных помещали под эфирный наркоз и проводили отбор крови в пробирки с антикоагулянтом. Гематологический анализ проводили с помощью автоматического анализатора с определением содержания эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и тромбоцитов.

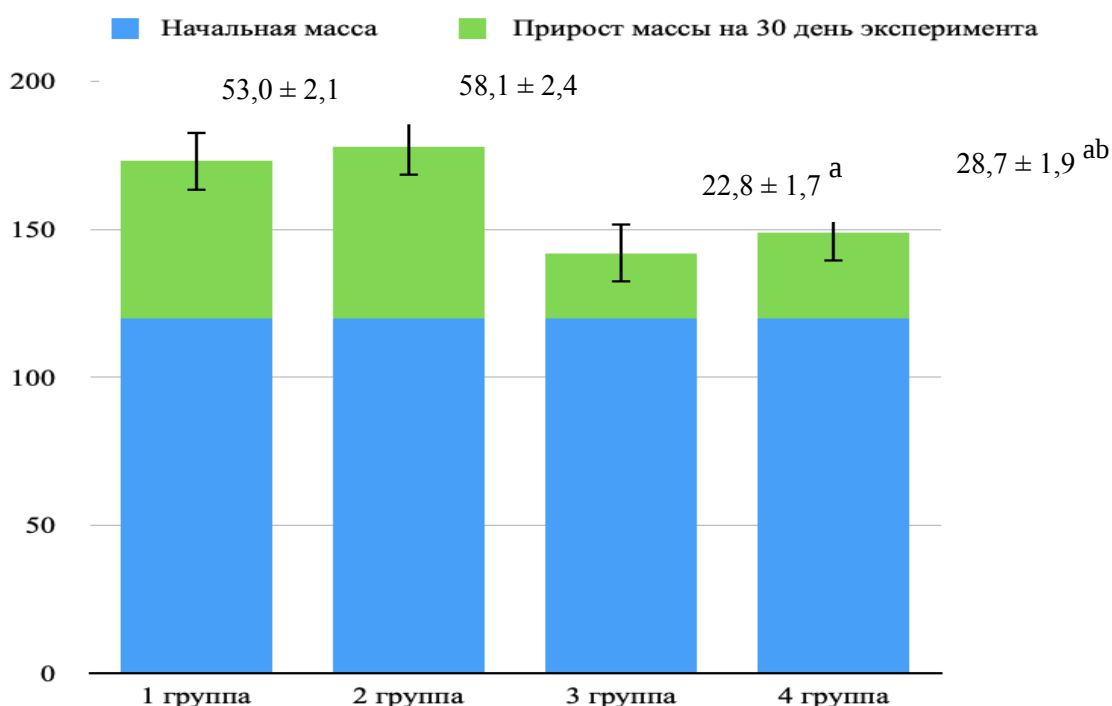
Результаты исследований и их обсуждение. В ходе эксперимента установлено, что потребление корма, загрязнённого фузариотоксинами (ТК), было ниже по сравнению с биологическим контролем. У животных этой группы отмечались угнетение общего состояния и диарея, выраженная в наибольшей степени среди всех подопытных групп. Данные по приросту массы тела к 30 суткам эксперимента представлены на рисунке 1. У животных, получавших загрязнённый корм (ТК), наблюдалось угнетение роста массы тела по сравнению с биологическим контролем (БК): абсолютный прирост массы тела снизился более чем в 2 раза (с 53,0 г до 22,8 г). Включение МГ в рацион здоровых животных (группа БК+МГ) не оказало негативного влияния на рост, абсолютный прирост массы тела был сопоставим с контролем и составил 58,1 г. Наиболее важным результатом является выявленный защитный эффект МГ в условиях интоксикации. В опытной группе (ТК+МГ) прирост живой массы (28,7 г) был выше, чем в группе токсического контроля (ТК) на 25,9 %, что свидетельствует о частичном восстановлении темпов роста на фоне применения адсорбента.

Результаты гематологического анализа крови представлены в таблице 1. Интоксикация комбинированной смесью фузариотоксинов (ТК) вызвала статистически значимое угнетение кроветворной функции. По сравнению с биологическим контролем (БК) в группе ТК наблюдалось снижение количества эритроцитов на 11,8 % ($p < 0,05$), гемоглобина на 11,9 % ($p < 0,05$) и тромбоцитов на 35,4 % ($p < 0,05$). Количество лейкоцитов увеличилось на 34,7 % ($p < 0,05$). Введение МГ здоровым животным (группа БК+МГ) не оказало негативного влияния на гематологическую картину, все показатели соответствовали физиологической норме и достоверно не отличались от контроля, имелась тенденция к увеличению количества лейкоцитов на 15,3 %, однако, изменение не было статистически достоверно.

Применение МГ на фоне интоксикации (группа ТК+МГ) оказало защитный эффект. По сравнению с группой ТК, в группе ТК+МГ отмечалось достоверное превышение уровня эритроцитов на 5,0 % ($p \leq 0,05$) гемоглобина - 7,9 % ($p \leq 0,05$) и тромбоцитов - 26,1 % ($p \leq 0,05$). Несмотря на сохраняющееся статистически значимое отличие от биологического контроля по показателю содержание

эритроцитов и тромбоцитов ($p \leq 0,05$), данные показатели демонстрируют частичное восстановление и нивелируют гематотоксический эффект.

Рисунок 1 – Масса тела и абсолютный прирост массы тела белых крыс при микотоксикозе на фоне применения малослойных графенов ($M \pm m$, $n=10$)



^a — $p < 0,05$ в сравнении с группой 1 (БК)

^b — $p < 0,05$ в сравнении с группой 3 (ТК)

Таблица 1 – Гематологические показатели крови крыс в конце эксперимента ($M \pm m$, $n=10$)

Показатель	Группы животных			
	1	2	3	4
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,8 \pm 0,14$	$6,9 \pm 0,15$	$6,0 \pm 0,17^a$	$6,3 \pm 0,11^a$
Гемоглобин, г/л	$111,3 \pm 0,41$	$111,6 \pm 0,33$	$98,1 \pm 0,69^a$	$105,8 \pm 0,42^b$
Лейкоциты, $10^9/л$	$7,2 \pm 0,18$	$8,3 \pm 0,20$	$9,7 \pm 0,14^a$	$7,1 \pm 0,18^b$
Тромбоциты, $10^9/л$	$710,5 \pm 15,1$	$640,3 \pm 27,2$	$459,1 \pm 13,9^a$	$578,8 \pm 19,1^{a,b}$
Примечание				
^a - статистически значимые отличия от группы 1 ($p \leq 0,05$)				
^b - статистически значимые отличия от группы 3 ($p \leq 0,05$)				

Полученные результаты демонстрируют, что выбранная модель интоксикации вызывает угнетение гемопоэза и значительное снижение прироста живой массы. МГ проявил нивелирующий токсический эффект: в группе ТК+МГ гематологические показатели были достоверно лучше, чем в группе ТК. Отсутствие негативного влияния испытанного образца МГ на картину крови интактных животных свидетельствует о возможности его безопасного применения. Механизм защитного действия, вероятно, связан с сорбцией токсинов в желудочно-кишечном тракте, что предотвращает их всасывание и системное воздействие на органы кроветворения. Отсутствие выраженного негативного эффекта МГ вопреки данным литературы, вероятно связано с особенностями структуры – имеется широкий предел величины частиц, способом получения МГ и неоднородности сырья из которого он синтезирован. Следует отметить, что, согласно литературным данным, эффективность сорбентов мо-

жет варьировать в зависимости от типа токсина и свойств самого сорбента. В данном исследовании МГ показал принципиальную способность к защите при комбинированной контаминации токсинами.

Заключение: МГ в дозировке 0,05 % от массы корма проявляет защитное действие при экспериментальном комбинированном микотоксикозе у крыс. Применение МГ на фоне интоксикации достоверно способствовало частичному восстановлению темпов прироста массы тела и гематологических показателей по сравнению с группой, получавшей только токсины. МГ не оказывал выраженного негативного влияния на организм в отсутствие микотоксинов, что свидетельствует о возможности его безопасного применения. Полученные результаты обосновывают целесообразность дальнейших исследований МГ полученного путем самораспространяющегося высокотемпературного синтеза из природных биополимеров в качестве эффективного энтеросорбента для профилактики микотоксикозов в животноводстве.

Список источников

1. Вафин Ф. Р. Комбинированное действие микотоксинов *Fusarium* и их модифицированных форм / Ф. Р. Вафин, Л. Е. Матросова, Н. Н. Мишина [и др.] // Ветеринария. – 2025. – № 9. – С. 3-6.
2. Murtaza, B. Toxicodynamic of combined mycotoxins: MicroRNAs and acute-phase proteins as diagnostic biomarkers / B. Murtaza, X. Li, M. Y. Nawaz [et al.] // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2024. – Vol. 23, № 3. – e13338.
3. Вафин Ф. Р. Оценка токсичности корма, контаминированного грибами рода *Fusarium* / Ф. Р. Вафин, А. В. Софронова, Л. Е. Матросова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 3. – С. 15-19.
4. Гаврилова О. П. Разнообразие грибов рода *Fusarium* и их микотоксинов в зерне из азиатской части России / О. П. Гаврилова, Т. Ю. Гагкаева, А. С. Орина, Н. Н. Гогина // Микология и фитопатология. – 2022. – Т. 56, № 3. – С. 194-206.
5. Мишина Н. Н. 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.
6. Герунов, Т. В. Сочетанное поражение кормов микотоксинами как фактор риска множественной патологии животных / Т. В. Герунов, Л. К. Герунова, И. А. Симонова, Я. О. Крючек // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2022. – № 4 (48). – С. 116-123.
7. Ермолаева О. К. Качество мяса свиней при микотоксикозе на фоне применения энтеросорбентов / О. К. Ермолаева, С. А. Танасева, Л. Е. Матросова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2020. – № 4. – С. 15–20.
8. Тремасова А. М. 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.
9. Jampílek, J. Nanocomposites: synergistic nanotools for management of mycotoxigenic fungi / J. Jampílek, K. Králová // Nanomycotoxicology: Treating Mycotoxins in the Nano Way. – 2020. – P. 349-383.
10. Horky, P. Usability of graphene oxide... / P. Horky, E. Venusova, T. Aulichova [et al.] // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, № 9. – e0239479.
11. Возняковский, А. П. Малослойные графеновые структуры как перспективный сорбент микотоксинов / А. П. Возняковский, А. П. Карманов, Л. С. Кочева [и др.] // Журнал технической физики. – 2022. – Т. 92, № 7. – С. 951-957.
12. Кулакова, И. И. Химическое модифицирование графена / И. И. Кулакова, Г. В. Лисичкин // Журнал общей химии. – 2020. – Т. 90, № 10. – С. 1601-1626.
13. Voznyakovskii, A. New Way of Synthesis of Few-Layer Graphene Nanosheets by the Self Propagating High-Temperature Synthesis Method from Biopolymers / A. Voznyakovskii, A. Vozniakovskii, S. Kidalov // Nanomaterials. – 2022. – Vol. 12, № 4. -- P. 657.

References

1. Vafin F. R. Combined effect of *Fusarium* mycotoxins and their modified forms / F. R. Vafin, L. E. Matrosova, N. N. Mishina [et al.] // Veterinary Medicine. – 2025. – No. 9. – P. 3-6.
2. Murtaza, B. Toxicodynamic of combined mycotoxins: MicroRNAs and acute-phase proteins as diagnostic biomarkers / B. Murtaza, X. Li, M. Y. Nawaz [et al.] // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2024. – Vol. 23, № 3. – e13338.

3. Vafin F. R. Evaluation of toxicity of feed contaminated with fungi of the genus *Fusarium* / F. R. Vafin, A. V. Sofronova, L. E. Matrosova [et al.] // *Veterinary doctor*. – 2025. – No. 3. – P. 15–19.
4. Gavrilova O. P. Diversity of fungi of the genus *Fusarium* and their mycotoxins in grain from the Asian part of Russia / O. P. Gavrilova, T. Yu. Gagkaeva, A. S. Orina, N. N. Gogina // *Mycology and Phytopathology*. – 2022. – T. 56, No. 3. – P. 194-206.
5. Mishina N. N. 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 [etc.] // *Veterinary doctor*. – 2025. – No. 4. – P. 32–38.
6. Gerunov, T. V. Combined contamination of feed with mycotoxins as a risk factor for multiple animal pathologies / T. V. Gerunov, L. K. Gerunova, I. A. Simonova, Ya. O. Kryuchek // *Bulletin of Omsk State Agrarian University*. – 2022. – No. 4 (48). – P. 116-123.
7. Ermolaeva O. K. Quality of pig meat with mycotoxicosis against the background of the use of enterosorbents / O. K. Ermolaeva, S. A. Tanaseva, L. E. Matrosova [etc.] // *Veterinary doctor*. – 2020. – No. 4. – P. 15–20.
8. Tremasova A. M. 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.
9. Jampílek, J. Nanocomposites: synergistic nanotools for management of mycotoxigenic fungi / J. Jampílek, K. Králová // *Nanomycotoxicology: Treating Mycotoxins in the Nano Way*. – 2020. – P. 349-383.
10. Horky, P. Usability of graphene oxide... / P. Horky, E. Venusova, T. Aulichova [et al.] // *PLoS One*. – 2020. – Vol. 15, № 9. – e0239479.
11. Voznyakovsky, A. P. Few-layer graphene structures as a promising mycotoxin sorbent / A. P. Voznyakovsky, A. P. Karmanov, L. S. Kocheva [et al.] // *Journal of Technical Physics*. – 2022. – Vol. 92, No. 7. – P. 951-957.
12. Kulakova, I. I. Chemical modification of graphene / I. I. Kulakova, G. V. Lisichkin // *Journal of General Chemistry*. - 2020. - Vol. 90, No. 10. - P. 1601-1626.
13. Voznyakovskii, A. New Way of Synthesis of Few-Layer Graphene Nanosheets by the Self Propagating High-Temperature Synthesis Method from Biopolymers / A. Voznyakovskii, A. Vozniakovskii, S. Kidalov // *Nanomaterials*. – 2022. – Vol. 12, № 4. – P. 657.

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 04.03.2026;

© Семёнов Э. И., Мишина Н. Н., Возняковский А. А., Валиев А. Р., Вафин Ф. Р., Софронова А. В., Коваль И. М. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 40 – 45
The Veterinarian. 2026; (2): 40 – 45

Научная статья
УДК 619.615.2/661.155.3
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_40

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ГЕПАТОПРОТЕКТ» НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И МЯСНЫЕ КАЧЕСТВА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ АФЛАТОКСИКОЗЕ

Светлана Анатольевна Танасева, кандидат биологических наук, *s-tanaseva@mail.ru*
Лилия Евгеньевна Матросова, доктор биологических наук, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*
Владислав Олегович Домбровский, *vlad_tavria34@mail.ru*
Ольга Константиновна Ермолаева, кандидат биологических наук, *ermolao@list.ru*
Анастасия Владимировна Софронова, кандидат биологических наук, *anastaciaa349ot116@mail.ru*
Марина Александровна Ерохондина, *m.erohondina@gmail.ru*
Элина Ильгизовна Идрисова, *elina.idrisova82@mail.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Светлана Анатольевна Танасева.

Аннотация. Афлатоксины являются главным фактором снижения выхода мяса и ухудшения производственных показателей в современном промышленном птицеводстве. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния афлатоксина В₁ и кормовой добавки «Гепатопротект» на качественные показатели мяса бройлеров. После периода адаптации цыпленка кросса Кобб 500 (живой массой 70–90 г) были распределены на четыре группы. Схема 28-дневного эксперимента включала: биологический контроль (основной рацион), опытную группу (2,5 мг афлатоксина В₁ на кг корма), группу сочетанного воздействия (2,5 мг афлатоксина В₁ + «Гепатопротект» в дозе 10 г/кг) и группу с изолированным введением добавки. В конце эксперимента провели контрольный убой (по 3 головы из каждой группы) с последующей комплексной оценкой продукции. В результате установлено, что потребление корма с афлатоксином В₁ приводит к признанию мяса некачественным по биохимическим критериям: отсутствию активности пероксидазы и резкому накоплению продуктов распада. В частности, содержание летучих жирных кислот превысило норму на 80,3 %, а аммиачного азота — на 33,8 %. Порча подтверждалась органолептически (изменение цвета, липкость, посторонний запах). Патологическое увеличение печени на 23,0 % (гепатомегалия) коррелировало с угнетением роста: масса потрошенной тушки снизилась на 54,4 %, а убойный выход — на 15,4 %. Включение в рацион добавки «Гепатопротект» оказало выраженное корригирующее влияние, способствуя нормализации морфофункционального состояния птицы и улучшению выхода мясной продукции. Использование кормовой добавки «Гепатопротект» оказало выраженное терапевтическое влияние на физиологическое состояние поголовья. Благодаря комплексному профилактическому составу препарата удалось существенно улучшить как качественные характеристики, так и количественные параметры мясной продуктивности.

Ключевые слова: афлатоксин В₁, цыплята-бройлеры, мясо, убойный выход

Для цитирования: Танасева С. А., Матросова Л. Е., Домбровский В. О., Ермолаева О. К., Софронова А. В., Ерохондина М. А., Идрисова Э. И. Влияние кормовой добавки «Гепатопротект» на продуктивность и мясные качества цыплят-бройлеров при афлатоксикозе // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 40 – 45. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_40

EFFECT OF THE FEED ADDITIVE "HEPATOPROTECT" ON THE PRODUCTIVITY AND MEAT QUALITY OF BROILER CHICKENS WITH AFLATOXICOSIS

Svetlana A. Tanaseva, Candidate of Biological Sciences, *s-tanaseva@mail.ru*
Lilia E. Matrosova, Doctor of Biological Sciences, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*
Olga K. Ermolaeva, Candidate of Biological Sciences, *ermolao@list.ru*

Anastasia V. Sofronova, candidate of biological sciences, anastaciaa349ot116@mail.ru
Marina A. Eroxondina, m.erxondina@gmail.ru
Elina I. Idrisova, elina.idrisova82@mail.ru

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

Corresponding author: Svetlana Anatolyevna Tanaseva.

Abstract. Aflatoxins are the main factor in reducing meat yield and worsening production performance in modern industrial poultry farming. The aim of this study was to investigate the effect of aflatoxin B1 and the feed additive Hepatoprotekt on the quality indicators of broiler meat. After the adaptation period, Cobb 500 chickens (live weight 70-90 g) were divided into four groups. The scheme of the 28-day experiment included: biological control (main diet), the experimental group (2,5 mg of aflatoxin B1 per kg of feed), the group of combined exposure (2,5 mg of aflatoxin B1 + "Hepatoprotekt" at a dose of 10 g/kg), and the group with isolated administration of the supplement. At the end of the experiment, a control slaughter was performed (3 heads from each group), followed by a comprehensive assessment of the products. As a result, it was found that the consumption of feed containing aflatoxin B1 leads to the recognition of meat as poor quality according to biochemical criteria: the absence of peroxidase activity and a sharp accumulation of decay products. In particular, the content of volatile fatty acids exceeded the norm by 80,3 %, and the content of ammonia nitrogen exceeded the norm by 33,8 %. The spoilage was confirmed by organoleptic indicators (changes in color, stickiness, and foreign odor). A pathological increase in liver size by 23,0 % (hepatomegaly) correlated with growth suppression: the weight of the eviscerated carcass decreased by 54,4 %, and the slaughter yield decreased by 15,4 %. The inclusion of the Hepatoprotector supplement in the diet had a pronounced corrective effect, contributing to the normalization of the bird's morphofunctional state and increasing the yield of meat products.

The use of the feed additive "Hepatoprotekt" had a pronounced therapeutic effect on the physiological state of the livestock. Thanks to the complex preventive composition of the product, it was possible to significantly improve both the qualitative characteristics and the quantitative parameters of meat productivity.

Keywords: aflatoxin B1, broiler chickens, meat, slaughter yield

Введение. Микотоксины представляют собой обширную группу низкомолекулярных вторичных метаболитов, вырабатываемых микроскопическими плесневыми грибами, преимущественно родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Alternaria* [1]. В современных условиях глобального изменения климата и нарушения технологий хранения урожая эти соединения выступают в роли одних из самых опасных и трудноискоренимых контаминантов сельскохозяйственного сырья, готовых кормов и продуктов питания. Их наличие в агропромышленном комплексе провоцирует развитие тяжелых форм микотоксикозов у сельскохозяйственных животных, которые могут протекать как в острой, так и в хронической форме, нанося колоссальный экономический ущерб предприятиям за счет снижения сохранности поголовья и темпов его роста [2-4].

Для человеческого организма данные токсины представляют комплексную угрозу, проявляя не только общетоксическое, но и тератогенное, мутагенное и, что особенно критично, канцерогенное действие [5]. В фундаментальной цепи «загрязненный корм — сельскохозяйственное животное — конечный потребитель» доминирующее положение по степени риска занимает афлатоксин B1 (AFB1) [6-7]. Согласно международной классификации Агентства по изучению рака (IARC), данное соединение официально признано канцерогеном 1-й группы. Его биологическая агрессивность проявляется в селективном поражении гепатоцитов (клеток печени), где в процессе метаболизма образуются активные эпоксиды, способные необратимо повреждать структуру ДНК [8].

В условиях современного интенсивного птицеводства проблема контаминации кормов афлатоксинами приобретает особую остроту, становясь одним из главных факторов, лимитирующих рентабельность отрасли. Высокая плотность посадки птицы и интенсивный метаболизм современных кроссов делают их крайне уязвимыми к воздействию афлатоксина B1. Токсикоз проявляется не только в клинических формах, но и в виде скрытых (субклинических) процессов, которые ведут к резкому снижению естественной резистентности организма. Это открывает путь для вторичных инфекций и снижает эффективность проводимых вакцинаций, что ставит под угрозу ветеринарное благополучие всего предприятия [9].

Воздействие афлатоксинов неизбежно сопряжено с деградацией производственных показателей: наблюдается выраженное падение как мясной, так и яичной продуктивности. У цыплят-

бройлеров это выражается в замедлении темпов среднесуточных привесов и нарушении конверсии корма. Более того, существенным экономическим ударом становится ухудшение товарного вида и биохимического состава тушек: мясо теряет свои диетические свойства, изменяется его текстура и цвет, а из-за хрупкости сосудов и поражения печени увеличивается процент брака при убойе и разделке [10-11].

Для нивелирования этих негативных факторов в зоотехнической практике общепризнанным и эффективным методом является использование энтеросорбентов. Механизм их действия основан на селективной адсорбции молекул токсина непосредственно в просвете желудочно-кишечного тракта. Путем формирования прочных комплексов «сорбент–токсин» эти добавки предотвращают всасывание ядовитых веществ через слизистую оболочку кишечника в системный кровоток, тем самым снижая токсическую нагрузку на печень и другие органы-мишени [12-15].

Настоящая научно-исследовательская работа посвящена всесторонней оценке эффективности новой кормовой добавки «Гепатопротект». Уникальность средства заключается в его комплексном составе, сочетающем в себе не только высокоактивные сорбционные компоненты, но и специфические вещества, поддерживающие регенерацию гепатоцитов. В рамках исследования проводится анализ способности «Гепатопротекта» выступать в роли надежного средства коррекции негативного влияния афлатоксина В1 на качество мясной продукции цыплят-бройлеров. Актуальность данной работы продиктована необходимостью поиска импортозамещающих и высокоэффективных решений для обеспечения продовольственной безопасности и повышения качества продуктов птицеводства в условиях жестких экологических стандартов.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили цыплята-бройлеры кросса Кобб 500 (масса 70–90 г), закупленные в птицеводческом хозяйстве Республики Татарстан. После двухнедельной адаптации в виварии (температура 20–22°C, свободный доступ к корму и воде) птицы были распределены на четыре равные группы (n=10). Дизайн эксперимента продолжительностью 28 суток включал: контрольную группу (стандартный рацион «Финиш СНИСК»); опытную группу (рацион с афлатоксином В1 в дозировке 2,5 мг/кг); группу сочетанного воздействия (токсин 2,5 мг/кг + добавка «Гепатопротект» 10 г/кг) и группу изолированного введения добавки. Равномерное внесение токсина и добавки в корм обеспечивалось механическим смешиванием.

На 28-е сутки эксперимента провели контрольный убой (по 3 головы из каждой группы) с последующей комплексной оценкой продукции. Алгоритм экспертизы включал 24-часовое созревание тушек и комплекс лабораторных тестов на соответствие положениям ГОСТ 31962-2013 и нормам технических регламентов Таможенного союза по безопасности пищевых продуктов».

Результаты исследований и их обсуждение. При введении в рацион афлатоксина В1 (2,5 мг/кг) у птиц через 1,5–2 недели развивались симптомы интоксикации: нарушения координации движения и нервные расстройства. Включение в рацион кормовой добавки «Гепатопротект» эффективно предотвращало развитие данных клинических признаков. Афлатоксины влияют не только на здоровье бройлеров, но и значительное ухудшение производственных показателей (подавление роста, снижение качества мяса и товарной ценности продукции).

У птицы из группы токсического контроля зафиксированы органолептические показатели, характерные для мяса сомнительной свежести. Визуально отмечалась бледная корочка подсыхания и пожелтение внутреннего жира. Мышечная ткань на разрезе имела темно-красный цвет, была избыточно влажной и слегка липкой. Ухудшение консистенции проявлялось в снижении плотности и упругости (медленное восстановление ямки после надавливания). Характерными признаками стали кисловатый запах мяса и неприятный аромат бульона при сохранении его прозрачности. Подобная бледность тушек обусловлена тем, что афлатоксины блокируют всасывание и перенос каротиноидов.

Отклонение показателя pH до 5,1 в образцах токсической группы (при норме 5,5–6,0 (иногда до 5,3–5,8) через сутки после убоя) стало ключевым фактором ухудшения потребительских свойств мяса, изменив его текстуру и вкус.

Биохимический анализ подтвердил низкое качество сырья: отсутствие активности пероксидазы и резкий рост продуктов распада. Так, содержание летучих жирных кислот оказалось выше нормативных значений на 80,3%, а уровень аммиачного азота — на 33,8% ($P < 0,05$). Такие химические изменения сопровождаются органолептическими признаками: появлением неприятного запаха, липкости и изменением цвета.

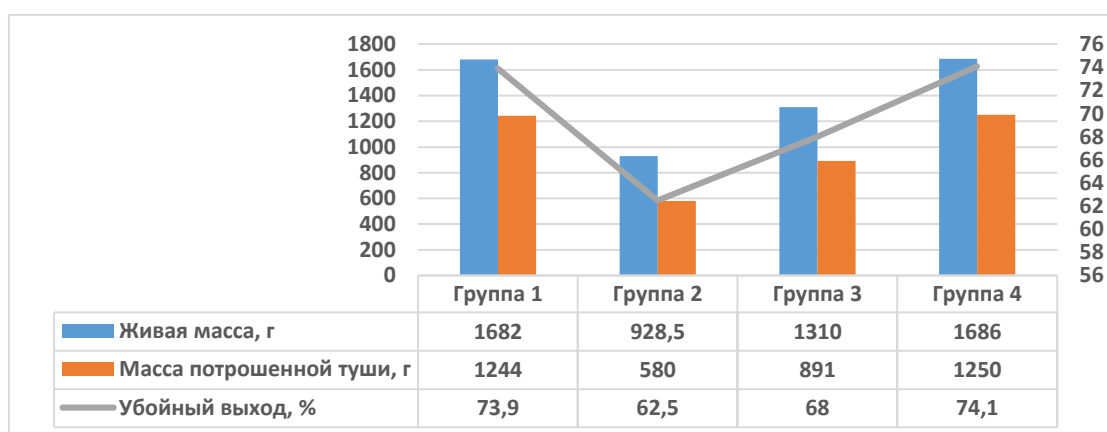
Применение кормовой добавки в условиях афлатоксикоза позволило стабилизировать органолептические и физико-химические свойства мяса бройлеров. Отсутствие статистически значимых отклонений от нормы подтверждает протекторную роль добавки в поддержании качественных характеристик мясной продукции

Исследования мяса в третьей группе показали, что добавка не ухудшает качество мяса (органолептические, физико-химические показатели), поэтому кормовую добавку можно рекомендовать для использования в птицеводстве без риска для качества конечного продукта. Зафиксировано наличие неспецифической микрофлоры (кокки, палочки) в мышцах птиц на фоне приема микотоксинов, что объясняется повышением проницаемости кишечного барьера. В остальных группах стерильность мышечной ткани была сохранена. Важно отметить, что обсемененность носила непатогенный характер, так как сальмонеллы и листерии отсутствовали во всех пробах.

Афлатоксины существенно снижают мясную продуктивность скота, провоцируя деструктивные изменения на системном, обменном и клеточном уровнях. Ключевым органом, подвергающимся токсическому поражению при попадании в организм афлатоксина В1, является печень. В ходе исследования было зафиксировано развитие гепатомегалии (увеличение массы органа) как прямое следствие воздействия данного микотоксина.

Выявлено, что при афлатоксикозе у цыплят-бройлеров наблюдается выраженная гепатомегалия (увеличение массы печени на 23,0 %, $P < 0,001$), обусловленная жировой инфильтрацией органа вследствие нарушения синтеза транспортных липопротеинов. Включение в рацион добавки «Гепатопротект» на фоне интоксикации афлатоксином В1 позволило минимизировать патологические изменения, что указывает на нормализацию функций печени. Дисфункция печени как основного органа-мишени вызывает супрессию белкового синтеза, что влечет за собой замедление весового роста и недоразвитие мышечного аппарата птицы. Данные об убойных показателях цыплят-бройлеров в условиях афлатоксикоза, а также при использовании кормовой добавки «Гепатопротект», отражены на рисунке 1.

Рисунок 1 – Убойные качества цыплят-бройлеров при афлатоксикозе на фоне применения кормовой добавки «Гепатопротект»



У птиц второй группы зафиксировано выраженное угнетение мясной продуктивности относительно контрольных значений. В частности, вес потрошенной тушки сократился на 54,4 % ($P < 0,001$), а показатель убойного выхода — на 15,4 % ($P < 0,01$). Включение в рацион добавки «Гепатопротект» на фоне афлатоксикоза позволило смягчить токсическое действие: отставание от контроля по массе тушки уменьшилось до 28,4 % ($P < 0,05$), а по убойному выходу — до 8,0 %.

Закключение. Экспериментально доказано, что высокие концентрации афлатоксина В1 угнетают мясную продуктивность цыплят. Использование кормовой добавки «Гепатопротект» оказало выраженное терапевтическое влияние на физиологическое состояние поголовья. Благодаря комплексному профилактическому составу препарата удалось существенно улучшить как качественные характеристики, так и количественные параметры мясной продуктивности.

Список источников

1. A case of laying hens mycosis caused by *Fusarium proliferatum* / R. M. Potekhina [et al.] // Veterinary Medicine International. – 2023. – Vol. 2023. – P. 5281260. – DOI 10.1155/2023/5281260.
2. Изучение защитного действия профилактических комплексов на ультраструктуру гепатоцитов кроликов при сочетанном микотоксикозе / Е. Ю. Тарасова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 1. – С. 57–63. doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_57

3. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса цыплят-бройлеров при использовании в кормах четырехкомпонентного сорбента на фоне микотоксикоза / Н.Н. Мишина [и др.] // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2023. – № 2 (46). – С. 174-179. doi: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202302007
4. Оценка качества мяса овец при Т-2 микотоксикозе на фоне применения антиоксидантов / Э. К. Папуниди, В. П. Коростелева, Е. Ю. Тарасова, С. Ю. Смоленцев // Мясная индустрия. – 2014. – № 5. – С. 48-49.
5. Загрязнённость продовольственного сырья грибом *Aspergillus fumigatus* / Э. И. Семенов [и др.] // Успехи медицинской микологии. – 2016. – Т. 16. – С. 225-227.
6. Морфологические и биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном афлатоксикозе на фоне применения ретинола ацетата и цеолита / А.З. Мухарлямова [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 238. – № 2. – С. 133-138. doi: 10.31588/2413-4201-1883-238-2-133-138
7. Мухарлямова, А. З. Определение уровня загрязнения кормов афлатоксином В1 / А. З. Мухарлямова // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2023. – Т. 9, № 2(34). – С. 162-167. DOI 10.30914/2411-9687-2023-9-2-162-167.
8. Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development / S. Marchese [et al.] // Toxins (Basel). 2018 May 24; 10(6):214. doi: 10.3390/toxins10060214.
9. Protective role of curcumin on aflatoxin B1-induced TLR4/RIPK pathway mediated-necroptosis and inflammation in chicken liver / S. Li [et al.] // Ecotoxicol Environ Saf. 2022 Mar 15;233:113319. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113319. Epub 2022 Feb 18. PMID: 35189522.
10. Мухарлямова, А. З. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса поросят при афлатоксикозе и на фоне лечения / А. З. Мухарлямова, А. М. Тремасова // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. – 2020. – № 22. – С. 474-476.
11. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса свиней при афлатоксикозе / Л. Е. Матросова, Э. И. Семенов, С. А. Танасева, С. Ю. Смоленцев // Мясная индустрия. – 2015. – № 5. – С. 51-52.
12. Влияние хитин-глюканового комплекса *Candida pseudotropicalis* на рост цыплят-бройлеров / Ф. Р. Вафин, А. Ф. Хасиятуллин, Э. И. Семенов [и др.] // Успехи медицинской микологии. – 2024. – Т. 26. – С. 252-255.
13. In vitro adsorption-desorption of aflatoxin B1 on Pepper's lignins isolated from grassy plants / A. P. Karmanov [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 144. – P. 111-117. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.081.
14. Афлатоксикоз свиней: эффективная схема лечения с применением гепатопротектора, энтеросорбента и пробиотика / С. А. Танасева, Л. Е. Матросова, Э. И. Семенов, М. Я. Тремасов // Свиноводство. – 2016. – № 4. – С. 51-53.
15. Применение энтеросорбентов в животноводстве / К. Х. Папуниди, М. Я. Тремасов, А. А. Иванов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2010. – № 5. – С. 20-22.

References

1. A case of laying hens mycosis caused by *Fusarium proliferatum* / R. M. Potekhina [et al.] // Veterinary Medicine International. – 2023. – Vol. 2023. – P. 5281260. – DOI 10.1155/2023/5281260
2. Study of the protective effect of preventive complexes on the ultrastructure of rabbit hepatocytes in combination Mycotoxicosis / E. Y. Tarasova [et al.] // The Veterinarian. – 2023. – № 1. – P. 57-63. doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_57
3. Veterinary and sanitary examination of broiler chicken meat when using a four-component sorbent in feed against the background of mycotoxicosis / N.N. Mishina [et al.] // Russian Journal of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. – 2023. – № 2 (46). – P. 174-179. doi: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202302007
4. Assessment of the quality of sheep meat in T-2 mycotoxicosis against the background of the use of antioxidants / E. K. Papunidi, V. P. Korosteleva, E. Yu. Tarasova, S. Yu. Smolentsev // Meat Industry. – 2014. – № 5. – P. 48-49.
5. Contamination of food raw materials by the fungus *Aspergillus fumigatus* / E. I. Semenov [et al.] // Advances in Medical Mycology. – 2016. – Vol. 16. – P. 225-227.

6. Morphological and biochemical blood parameters in rabbits with experimental aflatoxicosis against the background of the use of retinol acetate and zeolite / A.Z. Mukharlyamova [et al.] // Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2019. – Vol. 238. – № 2. – P. 133-138. doi: 10.31588/2413-4201-1883-238-2-133-138
7. Mukharlyamova, A. Z. Determination of the level of contamination of feed with aflatoxin B1 / A. Z. Mukharlyamova // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic Sciences. – 2023. – Vol. 9, № 2(34). – P. 162-167. DOI 10.30914/2411-9687-2023-9-2-162-167.
8. Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development / S. Marchese [et al.] // Toxins (Basel). 2018 May 24; 10(6):214. doi: 10.3390/toxins10060214.
9. Protective role of curcumin on aflatoxin B1-induced TLR4/RIPK pathway mediated-necroptosis and inflammation in chicken liver / S. Li [et al.] // Ecotoxicol Environ Saf. 2022 Mar 15; 233:113319. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113319. Epub 2022 Feb 18. PMID: 35189522.
10. Mukharlyamova, A. Z. Veterinary and sanitary examination of piglet meat in case of aflatoxicosis and against the background of treatment / A. Z. Mukharlyamova, A. M. Tremasova // Actual issues of improving the technology of production and processing of agricultural products. – 2020. – № 22. – P. 474-476.
11. Veterinary and sanitary examination of pork meat in case of aflatoxicosis / L. E. Matrosova, E. I. Semenov, S. A. Tanaseva, S. Yu. Smolentsev // Meat Industry. – 2015. – № 5. – P. 51-52.
12. The effect of the chitin-glucan complex of *Candida pseudotropicalis* on the growth of broiler chickens / F. R. Vafin, A. F. Khasiyatullin, E. I. Semenov [et al.] // Advances in Medical Mycology. – 2024. – Vol. 26. – P. 252-255.
13. In vitro adsorption-desorption of aflatoxin B1 on Pepper's lignins isolated from grassy plants / A. P. Karmanov [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 144. – P. 111-117. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.081.
14. Aflatoxicosis of pigs: an effective treatment regimen using a hepatoprotector, enterosorbent and probiotic / S. A. Tanaseva, L. E. Matrosova, E. I. Semenov, M. Ya. Tremasov // Pig breeding. – 2016. – № 4. – P. 51-53.
15. The use of enterosorbents in animal husbandry / K. H. Papunidi, M. Ya. Tremasov, A. A. Ivanov [et al.] // The Veterinarian. – 2010. – № 5. – P. 20-22.

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 22.01.2026;

© Танасева С. А., Матросова Л. Е., Домбровский В. О., Ермолаева О. К., Софронова А. В., Ерохондина М. А., Идрисова Э. И. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 46 – 51
The Veterinarian. 2026; (2): 46 – 51

Научная статья

УДК 619.615.661.718.1

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_46

АНАЛИЗ КИШЕЧНОГО БИОЦЕНОЗА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ КЛОТИАНИДИНОМ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Кадрия Фагимовна Халикова, кандидат ветеринарных наук, *k.khalikova@mail.ru*

Лилия Евгеньевна Матросова, доктор биологических наук, *m.lilia.evg@yandex.ru*

Гузалия Рустамовна Ямалова, *iamalova85@mail.ru*

Дамир Вазыхович Алеев, кандидат биологических наук, *aleev-damir@bk.ru*

Андрей Валериянович Маланьев, кандидат биологических наук, *malanев_andrei@mail.ru*

Гульнара Габитовна Галяутдинова, кандидат биологических наук, *galyautdinovaggg@gmail.com*

Владислав Иванович Егоров, кандидат биологических наук, *vladislav.e@inbox.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Кадрия Фагимовна Халикова.

Аннотация. Цель данного исследования - оценить влияние антитоксических лекарственных средств на качественный и количественный состав микрофлоры кишечника при отравлении белых крыс клотианидином. Опыты проведены на белых крысах, массой тела 200 - 230 г, разделенных по принципу аналогов на 5 групп по 6 голов в каждой: 1 группа: интактная группа животных; 2 группа: животные с кормом ежедневно получали инсектицид из класса неоникотиноидов «Клотиамет» (действующее вещество 500 г/кг клотианидина); 3 группа: на фоне введения инсектицида животные получали с водой пробиотический препарат «Ветоспорин-Ж» из расчета 2 мл/кг живой массы; 4 группа: на фоне введения инсектицида животные получали с водой комбинированный иммуномодулирующий препарат «Гамавит» из расчета 1 мл/кг живой массы; 5 группа: на фоне введения инсектицида животные получали смесь расторопши и янтарной кислоты из расчета 0,04 % от рациона. Продолжительность эксперимента – 30 суток. В конце эксперимента проводили микробиологический анализ содержимого кишечника белых крыс. Поступление с кормом исследуемого инсектицида сопровождалось количественными изменениями представителей нормофлоры кишечника. Уровень лакто и бифидобактерий был ниже чем у биологического контроля на 5,8 % ($p < 0,05$) и 6,9 % ($p < 0,05$). Количество эшерихий с нормальной ферментативной активностью в токсическом контроле в сравнении с биологическим контролем было ниже на 4,3 % ($p < 0,05$). В содержимом кишечника белых крыс второй группы были обнаружены единичные эшерихии $1,7 \pm 0,01$ lg КОЕ/г, обладающие гемолитической активностью. Также были выявлены дрожжевые грибы в количестве $2,1 \pm 0,01$ lg КОЕ/г. Введение на фоне интоксикации клотианидина исследуемых фармакологических средств оказывало положительное влияние на качественный и количественный состав микробиоты кишечника белых крыс. Наилучшие результаты были достигнуты при использовании пробиотического средства.

Ключевые слова: белые крысы, пестициды, неоникотиноиды, клотианидин, микрофлора кишечника

Для цитирования: Халикова К. Ф., Матросова Л. Е., Ямалова Г. Р., Алеев Д. В., Маланьев А. В., Галяутдинова Г. Г., Егоров В. И. Анализ кишечного биоценоза белых крыс при интоксикации клотианидином и использовании фармакологических средств // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 46 – 51. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_46

ANALYSIS OF THE INTESTINAL BIOCECENOSIS OF WHITE RATS DURING CLOTHIANIDINE INTOXICATION AND THE USE OF PHARMACOLOGICAL AGENTS

Kadriya F. Khalikova, candidate of veterinary sciences, *k.khalikova@mail.ru*

Liliya E. Matrosova, doctor of biological sciences, *m.lilia.evg@yandex.ru*

Guzaliya R. Yamalova, *iamalova85@mail.ru*

Damir V. Aleyev, candidate of biological sciences, *aleev-damir@bk.ru*

Andrey V. Malanyev, candidate of biological sciences, *malanov_andrei@mail.ru*

Gulnara G. Galyautdinova, candidate of biological sciences, *galyautdinovaggg@gmail.com*

Vladislav I. Egorov, candidate of biological sciences, *vladislav.e@inbox.ru*

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

Corresponding author: Kadriya Fagimovna Khalikova.

Abstract. The aim of this study was to evaluate the effect of antitoxic drugs on the qualitative and quantitative composition of intestinal microflora in white rats poisoned with clothianidin. The experiments were conducted on white rats weighing 200-230 g, divided according to the analog principle into 5 groups of 6 animals each: Group 1: intact group of animals; Group 2: animals received the neonicotinoid insecticide Clotiamet (active ingredient 500 g/kg clothianidin) daily with their feed; Group 3: against the background of the introduction of the insecticide, the animals received the probiotic drug Vetosporin-Zh with water at a rate of 2 ml/kg of live weight; Group 4: against the background of the introduction of the insecticide, the animals received the combined immunomodulatory drug Gamavit with water at a rate of 1 ml/kg of live weight. Group 5: against the background of the insecticide administration, the animals received a mixture of milk thistle and succinic acid at the rate of 0.04% of the diet. The duration of the experiment was 30 days. At the end of the experiment, a microbiological analysis of the intestinal contents of white rats was performed. The intake of the studied insecticide with food was accompanied by quantitative changes in the representatives of the normal intestinal flora. The level of lacto and bifidobacteria was lower than in the biological control by 5.8% ($p < 0.05$) and 6.9% ($p < 0.05$). The number of *Escherichia coli* with normal enzymatic activity in the toxic control was lower by 4.3% ($p < 0.05$) compared to the biological control. Single *Escherichia coli* with hemolytic activity (1.7 ± 0.01 lg CFU/g) were found in the intestinal contents of white rats of the second group. Yeast fungi were also detected at a concentration of 2.1 ± 0.01 lg CFU/g. Administration of the studied pharmacological agents to patients with clothianidin intoxication had a positive effect on the qualitative and quantitative composition of the intestinal microbiota of white rats. The best results were achieved with the probiotic agent.

Keywords: white rats, pesticides, neonicotinoids, clothianidin, intestinal microflora

Введение. Неоникотиноиды представляют собой современный класс инсектицидов, по структуре напоминающих никотин. Эти препараты эффективно уничтожают вредителей сельскохозяйственных культур, включая те, которые приобрели устойчивость к другим средствам. Имидаклоприд, тиаклоприд, клотианидин, тиаметоксам, ацетамиприд, нитенпирам и динотефуран - самые популярные неоникотиноиды. Благодаря своей способности растворяться в воде и системному действию, они сохраняются в окружающей среде на протяжении длительного времени. Неоникотиноиды обнаруживаются в почве, пыли, водоемах, грунтовых водах, растениях, организме животных и продуктах питания [1].

Кишечная микробиота, представляющая собой сложную экосистему, включающую микроорганизмы различных таксономических групп, играет ключевую роль в регуляции физиологических процессов организма. Эта сложная экосистема помогает переваривать пищу, синтезировать витамины и ферментировать пищевые волокна. В результате образуются короткоцепочечные жирные кислоты, которые поддерживают энергетический баланс и улучшают метаболизм. Микробиота кишечника также влияет на иммунную систему. Она участвует в иммунном ответе, помогает поддерживать баланс и защищает организм от патогенов, вытесняя вредные микроорганизмы [2].

В обычных условиях желудочно-кишечный тракт подвергается воздействию загрязняющих веществ, поступающих алиментарным путем. Многочисленные исследования показали, что различные загрязнители окружающей среды, в том числе неоникотиноиды, могут влиять на микробиоту кишечника, приводя к изменениям его качественного и количественного состава [3].

Целью данного исследования было оценить влияние антитоксических лекарственных средств на качественный и количественный состав микрофлоры кишечника при отравлении белых крыс клотианидином.

Материалы и методы. В работе использовали инсектицид из класса неоникотиноидов «Клотиапет», из расчета действующего вещества клотианидина – 50 мг/кг массы тела животных. В качестве фармакологических средств использовали препараты «Ветоспорин-Ж», Гамавит, смесь расторопши и янтарной кислоты. «Ветоспорин-Ж» – пробиотическая кормовая добавка для животных. Со-

держит биомассу споровых бактерий *Bacillus subtilis* 12 В и *B. subtilis* 11 В (1×10^8 КОЕ/мл) в среде культивирования. «Гамавит» - комбинированный иммуномодулирующий препарат. Входящие в состав препарата компоненты (натрия нуклеинат и кислотный гидролизат плаценты денатурированной эмульгированной) стимулируют естественную резистентность, повышают бактерицидную активность сыворотки крови, устойчивость животных к стрессу и чрезмерным нагрузкам, оказывают иммуномодулирующее действие, повышают сохранность и привесы молодняка.

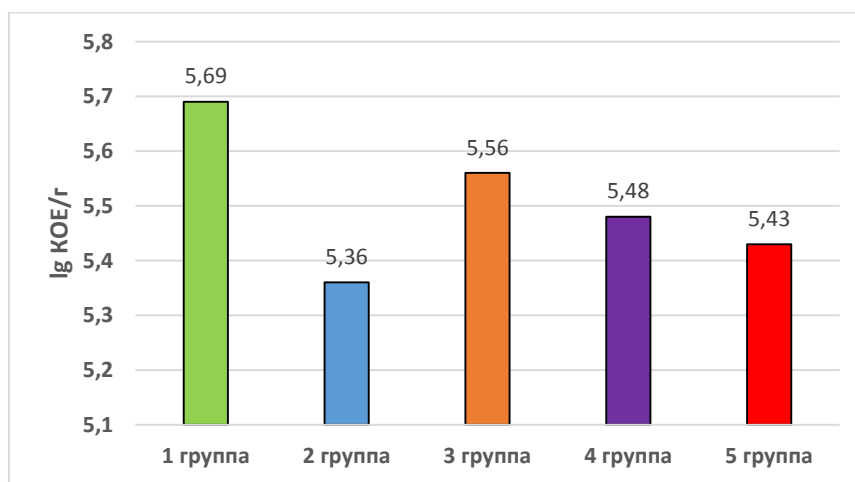
Опыты проведены на белых крысах, массой тела 200-230 г, разделенных по принципу аналогов на 5 групп по 6 голов в каждой:

- ✓ 1 группа: интактная группа животных;
- ✓ 2 группа: животные с кормом ежедневно получали инсектицид «Клотиамет»;
- ✓ 3 группа: на фоне введения инсектицида животные получали с водой пробиотический препарат «Ветоспорин-Ж» из расчета 2 мл/кг живой массы;
- ✓ 4 группа: на фоне введения инсектицида животные получали с водой комбинированный иммуномодулирующий препарат «Гамавит» из расчета 1 мл/кг живой массы;
- ✓ 5 группа: на фоне введения инсектицида животные получали смесь расторопши и янтарной кислоты из расчета 0,04 % от рациона.

Продолжительность эксперимента – 30 суток. В конце эксперимента проводили микробиологический анализ содержимого кишечника белых крыс по методике, описанной ранее [4]. Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований и их обсуждение. Степень и характер нарушения микробиоты кишечника, вызванного различными причинами, зависят от нескольких факторов, в том числе от дозы, продолжительности воздействия и чувствительности конкретного организма [5].

Рисунок 1 – Содержание лактобактерий в кишечнике белых крыс на фоне воздействия клотианидина и фармакокоррекции антитоксическими веществами



Учитывая растущую осведомлённость о пагубном влиянии неоникотиноидов на микробиоту кишечника, будущие исследования должны быть сосредоточены на стратегиях восстановления микробиома после воздействия пестицидов. Исследованиями El Khoury et al., 2021 обнаружено, что воздействие клотианидином приводит к количественному снижению представителей родов *Frischella* и *Flavobacterium* в кишечнике медоносных пчел. Под влиянием клотианидина происходит перераспределение полезных штаммов и/или потенциально патогенных таксонов в кишечнике, что свидетельствует о нарушении симбиотических защитных систем, в том числе устойчивости к колонизации микроорганизмами [6].

На рисунках 1-3 представлено содержание представителей нормофлоры кишечника белых крыс на фоне воздействия клотианидина и фармакокоррекции антитоксическими веществами.

Рисунок 2 – Содержание бифидобактерий в кишечнике белых крыс на фоне воздействия клотианидина и фармакокоррекции антитоксическими веществами

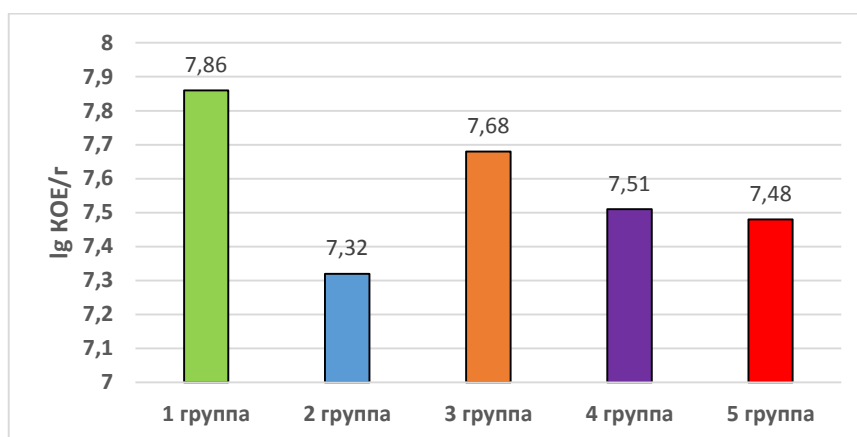
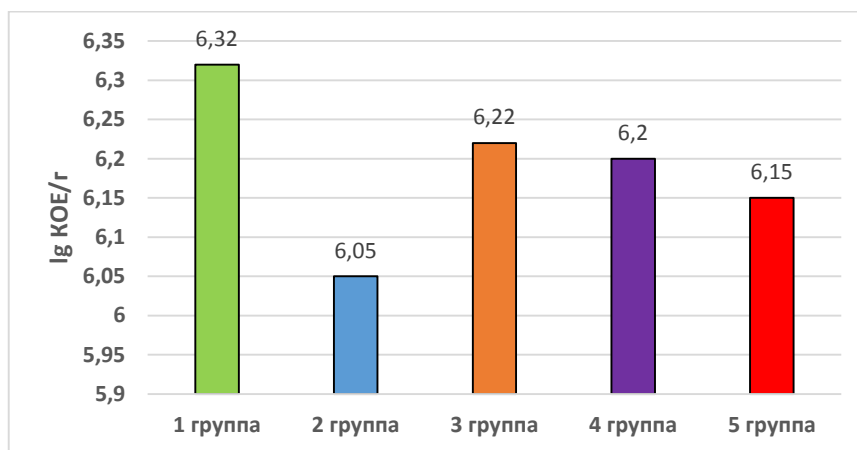


Рисунок 3 – Содержание эшерихий с нормальной ферментативной активностью в кишечнике белых крыс на фоне воздействия клотианидина и фармакокоррекции антитоксическими веществами



Из рисунков 1-3 видно, что поступление с кормом исследуемого инсектицида сопровождалось количественными изменениями представителей нормофлоры кишечника. Во второй группе (токсический контроль) уровень лакто и бифидобактерий был ниже группы №1 (биологический контроль) на 5,8 % ($p<0,05$) и 6,9 % ($p<0,05$), Количество эшерихий с нормальной ферментативной активностью в токсическом контроле в сравнении с биологическим контролем было ниже на 4,3 % ($p<0,05$).

В таблице представлено содержание представителей условно-патогенной микрофлоры кишечника белых крыс на фоне воздействия клотианидина и фармакокоррекции антитоксическими веществами.

Таблица – Содержание условно-патогенной микрофлоры кишечника белых крыс на фоне воздействия клотианидина и фармакокоррекции антитоксическими веществами

№ группы	Показатель, lg KOE/г				
	Дрожжевые грибы	Сальмонеллы	Протеи	Гемолитические эшерихии	Стафилококк золотистый
1	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.
2	2,1±0,01	не обн.	не обн.	1,7±0,01	не обн.
3	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.
4	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.
5	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.	не обн.
* $p<0,05$					

Из таблицы видно, что в содержимом кишечника белых крыс второй группы были обнаружены единичные эшерихии $1,7 \pm 0,01$ lg КОЕ/г, обладающие гемолитической активностью. Также были выявлены дрожжевые грибы в количестве $2,1 \pm 0,01$ lg КОЕ/г.

Введение на фоне интоксикации клотианидина исследуемых фармакологических средств оказывало положительное влияние на качественный и количественный состав микробиоты кишечника белых крыс. Наилучшие результаты были достигнуты при использовании пробиотического средства (3 группа). Пробиотики - это полезные микроорганизмы, которые поддерживают здоровье организма. Они помогают восстановить баланс микрофлоры в кишечнике после воздействия пестицидов. Исследования показывают, что определенные штаммы лактобактерий и бифидобактерий укрепляют здоровье кишечника, улучшают иммунитет и снижают воспаление, связанное с дисбактериозом [7]. В третьей группе (клотианидин + «Ветоспорин-Ж») количество лактобактерий и бифидобактерий было выше токсического контроля на 3,7 и 4,9 % ($p < 0,05$), содержание эшерихий выше на 2,8 %. В четвертой группе (клотианидин + «Гамавит») лактобактерий и бифидобактерий выше на 2,2 и 2,6 % и уровень эшерихий был выше на 2,5 % в сравнении с токсической группой. В пятой группе (клотианидин + расторопша + янтарная кислота) содержание лактобактерий и бифидобактерий было выше токсического контроля на 1,3 и 2,2 %, уровень эшерихий выше на 1,7 %.

Дрожжевые грибы и гемолитические эшерихии не были обнаружены при микробиологическом анализе содержимого кишечника белых крыс, получавших на фоне введения инсектицида исследуемых средств. Сальмонеллы, протеи и стафилококк золотистый в толстом отделе кишечника белых крыс всех подопытных групп не были обнаружены.

Заключение. По результатам проведенных экспериментов установлено, что введение исследуемых фармакологических средств, на фоне интоксикации клотианидином, оказывало положительное влияние на качественный и количественный состав микробиоты кишечника белых крыс. Наилучшие результаты в исследованиях были достигнуты при использовании пробиотического средства.

Список источников

1. Санитарно-токсикологическая оценка кормов из РСО-Алания / К.Ю. Апостолиди, Ф.Н. Чеходари, К.Х. Папуниди [и др.] // Ветеринарный врач. – 2017. – № 3. – С. 39-43. – EDN YRWHKJ.
2. Afzaal M. et al. Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship //Frontiers in microbiology. – 2022. – Vol. 13. – С. 999001.
3. Khan MN, Bilal H, Khan S, Shafiq M, Jiao X. Collateral damage of neonicotinoid insecticides: Unintended effects on gut microbiota of non-target organisms. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2025 Dec; 298:110330. doi: 10.1016/j.cbpc.2025.110330. Epub 2025 Aug 18. PMID: 40829325.
4. Оценка эффективности энтеросорбентов в коррекции микробиоценоза толстого кишечника при отравлении белых крыс глифосатом / В.И. Егоров, Г.Г. Галютдинова, Л.Е. Матросова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 6. – С. 12-16. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_6_12. – EDN QAAMUO.
5. Zhang Y. et al. Insight of neonicotinoid insecticides: Exploring exposure, mechanisms in non-target organisms, and removal technologies //Pharmacological Research. – 2024. –Vol. 209. – С. 107415.
6. El Khoury S, Gauthier J, Bouslama S, Cheaib B, Giovenazzo P, Derome N. Dietary Contamination with a Neonicotinoid (Clothianidin) Gradient Triggers Specific Dysbiosis Signatures of Microbiota Activity along the Honeybee (*Apis mellifera*) Digestive Tract. *Microorganisms*. 2021 Nov 2;9(11):2283. doi: 10.3390/microorganisms9112283. PMID: 34835409; PMCID: PMC8619528.
7. Nourizadeh R. et al. Impact of probiotics in modulation of gut microbiome // Microbiome-Gut-Brain Axis: Implications on Health. – Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. – P. 401-409.

References

1. Sanitary and toxicological assessment of feeds from North Ossetia-Alania / K.Y. Apostolidi, F.N. Chekhodaridi, K.H. Papunidi [et al.] // Veterinarian. – 2017. – № 3. – pp. 39-43. – EDN YRWHKJ.
2. Afzaal M. et al. Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship //Frontiers in microbiology. – 2022. – Vol. 13. – S. 999001.
3. Khan MN, Bilal H, Khan S, Shafiq M, Jiao X. Collateral damage of neonicotinoid insecticides: Unintended effects on gut microbiota of non-target organisms. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2025 Dec; 298:110330. doi: 10.1016/j.cbpc.2025.110330. Epub 2025 Aug 18. PMID: 40829325.

4. Evaluation of the effectiveness of enterosorbents in correcting colon microbiocenosis in white rat poisoning with glyphosate / V.I. Egorov, G.G. Galyautdinova, L.E. Matrosova [et al.] // *Veterinarian*. – 2025. – No. 6. – pp. 12-16. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_6_12. – EDN QAAMUO.
5. Zhang Y. et al. Insight of neonicotinoid insecticides: Exploring exposure, mechanisms in non-target organisms, and removal technologies // *Pharmacological Research*. – 2024. – Vol. 209. – C. 107415.
6. El Khoury S, Gauthier J, Bouslama S, Cheaib B, Giovenazzo P, Derome N. Dietary Contamination with a Neonicotinoid (Clothianidin) Gradient Triggers Specific Dysbiosis Signatures of Microbiota Activity along the Honeybee (*Apis mellifera*) Digestive Tract. *Microorganisms*. 2021 Nov 2;9(11):2283. doi: 10.3390/microorganisms9112283. PMID: 34835409; PMCID: PMC8619528.
7. Nourizadeh R. et al. Impact of probiotics in modulation of gut microbiome // *Microbiome-Gut-Brain Axis: Implications on Health*. – Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. – P. 401-409.

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 11.02.2026;

© Халикова К. Ф., Матророва Л. Е., Ямалова Г. Р., Алеев Д. В., Маланьев А. В., Галяутдинова Г. Г., Егоров В. И. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 52 – 56
The Veterinarian. 2026; (2): 52 – 56

Научная статья
УДК 619.615.661.718.1
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_52

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ЖИВОТНЫХ ГЛИФОСАТОМ

Кадрия Фагимовна Халикова, кандидат ветеринарных наук, *k.khalikova@mail.ru*
Гузалия Рустамовна Ямалова, *iamalova85@mail.ru*
Владислав Иванович Егоров, кандидат биологических наук, *vladislav.e@inbox.ru*
Андрей Валериянович Маланьев, кандидат биологических наук, *malanев_andrei@mail.ru*
Дамир Вазыхович Алеев, кандидат биологических наук, *aleev-damir@bk.ru*
Исанькин Алексей Витальевич, *isankin@mail.ru*
Василевский Николай Михайлович, доктор ветеринарных наук, *vnickm@list.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Кадрия Фагимовна Халикова.

Аннотация. В представленном исследовании оценивается результативность применения лечебных средств на белых крысах, подвергнутых воздействию глифосата. Для реализации опытов было задействовано тридцать лабораторных белых крыс, живой массой 200-230г, распределенных на пять групп. Первая контрольная - получала чистый корм; вторая - токсический рацион с глифосатом в дозе 30 мг/кг; третья опытная группа получала глифосат и лечебное средство «Ветоспорин-Ж». Четвертая группа – глифосат и «Гамавит». Пятая группа - расторопша с янтарной кислотой. Продолжительность исследования составила 30 дней. Из данного эксперимента видно, что наибольший прирост живой массы, белых крыс наблюдали в опытной группе, получавшей лечение препаратом «Ветоспорин-Ж», который составил – 47,2 г. На основании выполненных анализов было выявлено, что применение глифосата отрицательным образом сказывается на гематологических и биохимических показателях. Использование пробиотического препарата «Ветоспорин-Ж» способствовало снижению токсических эффектов, вызванных данным гербицидом.

Ключевые слова: глифосат, белые крысы, антитоксические вещества, морфологические показатели, гербицид

Для цитирования: Халикова К. Ф., Ямалова Г. Р., Егоров В. И., Маланьев А. В., Алеев Д. В., Исанькин А. В., Василевский Н. М. Изучение эффективности антитоксических веществ при интоксикации животных глифосатом // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 52 – 56. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_52

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF ANTITOXIC SUBSTANCES IN ANIMAL INTOXICATION WITH GLYPHOSATE

Kadriya F. Khalikova, candidate of veterinary sciences, *k.khalikova@mail.ru*
Guzaliya R. Yamalova, *iamalova85@mail.ru*
Vladislav I. Egorov, candidate of biological sciences, *vladislav.e@inbox.ru*
Andrey V. Malanев, candidate of biological sciences, *malanев_andrei@mail.ru*
Damir V. Aleev, candidate of biological sciences, *aleev-damir@bk.ru*
Alexey V. Isankin, *isankin@mail.ru*
Nikolay M. Vasilevsky, Doctor of Veterinary Sciences, *vnickm@list.ru*

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

Corresponding author: Kadriya Fagimovna Khalikova.

Abstract. The presented study evaluates the effectiveness of the use of medicinal products on white rats exposed to glyphosate. Thirty laboratory white rats with a live weight of 200-230 g, divided into five groups, were involved in the implementation of the experiments. The first control group received clean food; the second received a toxic diet with glyphosate at a dose of 30 mg/kg; the third experimental group received glyphosate and the therapeutic agent Vetosporin-J. The fourth group is glyphosate and Gamavit. The fifth group is milk thistle with succinic acid. The duration of the study was 30 days. From this experiment, it can be seen that the largest increase in body weight of white rats was observed in the experimental group treated with Vetosporin-Z, which amounted to 47.2 g. Based on the analyses performed, it was found that the use of glyphosate negatively affects hematological and biochemical parameters. The use of the probiotic drug Vetosporin-Zh helped to reduce the toxic effects caused by this herbicide.

Keywords: glyphosate, white rats, antitoxic substances, morphological parameters, herbicide

Введение. Одним из популярных, широко используемых гербицидов в сельском хозяйстве для борьбы с многолетними сорняками, является глифосат [1]. Он относится к гербицидам неселективного действия и уничтожает все виды растений, с которыми взаимодействует. Глифосат является активным компонентом Раундапа. При его использовании, в растениях происходит блокировка выработки определенных белков, необходимых для роста. Кроме того, его использование приводит к сокращению популяций сорняков, служащих источником пищи и укрытием для многих видов насекомых и птиц. Глифосат негативно влияет на микрофлору кишечника млекопитающих и птиц, нарушает пищеварительную систему и снижает устойчивость к заболеваниям [2]. При попадании в грунт, данное вещество распадается до относительно безвредных составляющих. Тем не менее, глифосат оказывает негативное влияние на микроорганизмы, обитающие в почве, что может привести к снижению ее плодородия. Вещество классифицируется как умеренно опасное (3 класс), представляя токсикологическую угрозу для людей и животных. При непрерывном поступлении в организм животных вследствие нарушения регламентов их использования, данный гербицид оказывает негативное влияние на различные органы и функциональные системы живого организма. Его способность накапливаться в тканях приводит к снижению производительности сельскохозяйственных животных и, в конечном итоге, к их смертности. Для поддержания сопротивляемости животных к воздействию глифосата, представляется важным создание инновационных комбинированных препаратов. Эти средства должны быть способны эффективно нейтрализовать и выводить токсичные соединения из организма [3, 4]. Целью настоящего исследования является изучение воздействия антитоксических веществ при интоксикации белых крыс глифосатом на интегральные показатели животных.

Материалы и методы. В рамках исследовательского проекта для инициации воздействия на аутбредных крыс линии Wistar использовался глифосатсодержащий препарат (Аристократ, ВР, с концентрацией 480 г/л активного глифосатного компонента). Указанный гербицид вводился в стандартный рацион посредством поэтапного смешивания, дозировка составляла 30 мг/кг корма (в пересчете на активное вещество).

Опыты проводили на тридцати беспородных белых крысах, живой массой 200-230 грамм. Животные проходили двухнедельный адаптации до начала исследования. [5, 6]. Белых крыс методом выборки распределяли на пять групп по шесть животных в каждой. Первая группа служила биологическим контролем, вторая – токсический контроль, третья, четвертая и пятая группы – опытные. Схема постановки исследования представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Схема постановки исследования

№ группы	Наименование группы	Гербицид	Лечение
1	Биологический контроль	-	-
2	Токсический контроль	глифосат	-
3	Опытная	глифосат	«Ветоспорин-Ж»
4	Опытная	глифосат	«Гамавит»
5	Опытная	глифосат	расторопша+янтарная кислота

Для целей исследования была выделена первая группа животных, выполняющая роль контрольной. Вторая группа животных, служившая токсическим контролем (ТК), получала в составе рациона исключительно гербицид глифосат в количестве 30 мг на килограмм корма, третья - глифосат в той же дозе, что и во второй группе, но с добавлением в воду пробиотик «Ветоспорин-Ж» из расчета

2 мл/кг; четвертая группа одновременно с глифосатом получала комбинированный иммуномодулирующий препарат «Гамавит» с водой в дозе 1 мл/кг живой массы; пятой группе животных задавали глифосат и смесь расторопши с янтарной кислотой (комплекс лечебных средств, обладающих гепатопротекторными и антитоксическими свойствами) в дозе 0,04% от рациона. Формирование контрольных и опытных групп осуществлялось на основе тщательного подбора особей по принципу аналогов. Продолжительность исследования составила 30 сут. Дозы антитоксических веществ рассчитывали отдельно для каждого животного, согласно массе тела. Масса тела у белых крыс регистрировалась до начала исследования, затем на 15 и 30 сутки. По завершению экспериментов у животных проводилось взятие крови для исследований. Забор крови для исследований выполнялся методом декапитации. В рамках проведенного эксперимента для оценки составляющих крови, таких как эритроциты, лейкоциты, уровни гемоглобина и гематокрита, использовался анализатор Mythic 18 Vet. Биохимический анализ образцов крови осуществлялся с помощью прибора Microlab 300. Анализ полученных результатов проводился с использованием вариационной статистики. Для определения статистической значимости различий применялся t-критерий Стьюдента, а обработка данных производилась в программе Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе наблюдений за животными было установлено, что их внешние признаки, уровень и специфика двигательной активности, а также общая модель поведения находились в пределах физиологически приемлемых границ. В течение эксперимента, у животных получавших только глифосат отмечали угнетенность и снижение аппетита. В остальных подопытных группах видимых изменений в поведении животных не наблюдали. На диаграмме продемонстрировано изменение массы тела у белых крыс под влиянием глифосата, а также эффект от введения антитоксических средств.

Рисунок – Влияние глифосата и последующей антитоксической терапии на набор массы тела у белых крыс, г (n=6)

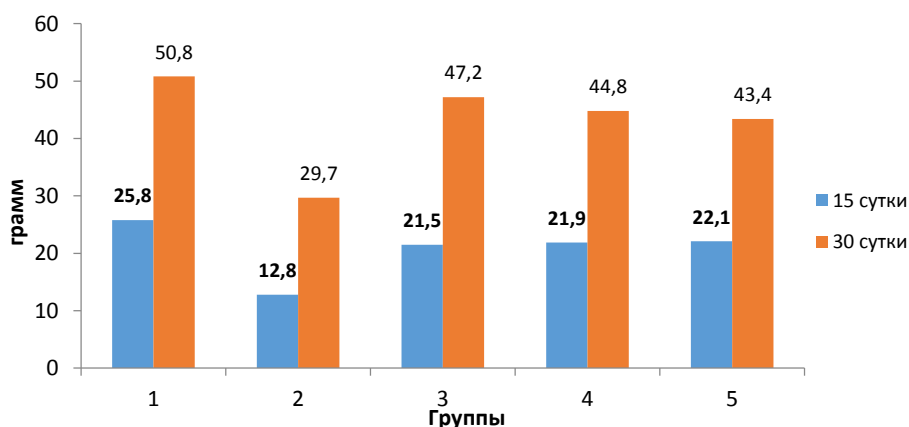


Таблица 2 – Изменение показателей крови у крыс под действием антитоксических веществ при глифосатной интоксикации (n=6), (M±m)

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	5
Эритроциты, × 10 ¹² /л	6,88± 0,18	4,96± 0,12*	6,53± 0,18*	5,91± 0,17*	5,84± 0,16*
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л	10,04± 0,26	7,43± 0,19*	9,53± 0,26*	8,62± 0,24*	8,53± 0,23*
Гемоглобин, г/л	142,80± 3,68	107,10± 2,69*	135,66± 3,70	123,30± 3,49*	121,38± 3,30*
Тромбоциты, 10 ⁹ /л, %	547,75± 14,11	421,94± 10,59*	520,37± 14,19*	471,07± 13,31*	465,59± 12,65*
Гематокрит, %	40,32±1,04	31,05±0,78*	38,30±1,04*	34,67±0,98*	34,27±0,93*
* – p ≤ 0,05					

Полученные данные показывают, что к 15 и 30 суткам во второй группе, где крысы, подвергались затравке глифосатом, прирост массы тела был ниже относительно данных биологического кон-

троля на 50,4% ($p \leq 0,001$) и 41,5% ($p \leq 0,001$) соответственно. Прирост живой массы в третьей группе опытных крыс, получавших «Ветоспорин-Ж» при отравлении глифосатом к концу эксперимента, был выше на 58,9% ($p \leq 0,001$) по сравнению с токсическим контролем. Прирост живой массы белых крыс к концу опыта в четвертой и пятой группе, получавшие «Гамавит», расторопшу в комбинации с янтарной кислотой выше на 50,8 % ($p \leq 0,001$), и 46,1 % ($p \leq 0,001$) относительно данных токсического контроля. Результаты анализа гематологических показателей крови у белых крыс, полученные на 30-й день эксперимента после воздействия глифосата и применения антитоксических препаратов, изложены в таблице 2.

Данные, представленные в таблице 2, указывают на то, что если сравнивать с биологическим контролем, то уровень эритроцитов в группе токсического контроля снизился на 27,9 % ($p \leq 0,05$). Количество лейкоцитов проявило уменьшение на 25,9% ($p \leq 0,05$), гемоглобина на 25,0% ($p \leq 0,05$), тромбоцитов на 22,9% ($p \leq 0,05$) и гематокрита на 22,9% ($p \leq 0,05$). У крыс третьей группы, получавших «Ветоспорин-Ж», показатели были выше токсического контроля, эритроциты на 31,6% ($p \leq 0,05$), уровень лейкоцитов - 28,2% ($p \leq 0,05$), гемоглобин на 26,6% ($p \leq 0,05$), тромбоцитов на 23,3% ($p \leq 0,05$) и гематокрита на 23,2% ($p \leq 0,05$). В четвертой группе животных, которые получали пестицид и «Гамавит» повышался по сравнению с токсическим контролем, уровень эритроцитов на 19,1% ($p \leq 0,05$), лейкоцитов на 16,0% ($p \leq 0,05$), гемоглобина на 15,4% ($p \leq 0,05$), тромбоцитов на 11,6% ($p \leq 0,05$) и гематокрита на 11,6% ($p \leq 0,05$). В группе пятой, которой задавали глифосат и расторопшу с янтарной кислотой, по сравнению с второй группой, уровень эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, тромбоцитов и гематокрита было выше на 17,7% ($p \leq 0,05$); 14,8 % ($p \leq 0,05$); 13,3% ($p \leq 0,05$); 10,3% ($p \leq 0,05$) и 10,3% ($p \leq 0,05$). Исследование показало, что пробиотик «Ветоспорин-Ж» оказывает наиболее выраженное положительное влияние на гематологические показатели белых крыс, подвергшихся воздействию глифосата, по сравнению с другими изученными антитоксическими средствами. Результаты данные биохимических показателей сыворотки крови белых крыс, полученные на 30-й день после экспозиции глифосатом и последующего введения антитоксических средств, представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Изменение биохимических параметров у белых крыс под действием антитоксических средств в условиях интоксикации глифосатом, ($n=6$) ($M \pm m$)

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	5
Общий белок, г/л	61,50± 1,22	49,20± 1,24*	58,42± 1,59*	52,89± 1,50	52,89± 1,44
Глюкоза, ммоль/л	5,46±0,14	6,80±0,17*	5,73±0,16	6,22±0,18	6,28±0,17
АЛТ, ед/л	48,60± 1,25	62,21± 1,56*	51,03± 1,39*	55,40± 1,56*	55,70± 1,51*
АСТ, ед /л	60,10 ±1,55	76,90± 1,93*	63,10± 1,46*	68,50± 1,94*	69,11± 1,88*
Общий билирубин, мкмоль/л	5,13± 0,13	3,85± 0,10*	4,87± 0,13*	4,41± 0,13*	4,36± 0,12*
Креатинин, мкмоль/л	119,60± 3,08	149,50± 3,75*	125,58± 3,43	136,34± 3,85	137,54± 3,74
Мочевина, ммоль/л	2,97±0,08	3,56±0,09*	3,12±0,09*	3,38±0,10	3,42±0,09
* – $p \leq 0,05$					

Анализируя таблицу 3, выявили, что во второй группе (токсический контроль) показатель общего белка и билирубина был ниже, чем у биологического контроля на 20,0% ($p \leq 0,05$) и 25,0% ($p \leq 0,05$); уровень АЛТ, АСТ, креатинина был выше первой группы на 28,0% ($p \leq 0,05$); 27,9% ($p \leq 0,05$) и 25,0% ($p \leq 0,05$); содержание глюкозы и мочевины выше на 24,5% ($p \leq 0,05$) и 19,8% ($p \leq 0,05$) соответственно. У животных третьей группы, которые принимали «Ветоспорин-Ж» содержание общего белка и билирубина был выше токсического контроля на 18,7% ($p \leq 0,05$) и 26,5% ($p \leq 0,05$), а показатели глюкозы, АЛТ, АСТ, креатинина, мочевины повышались на 15,7% ($p \leq 0,05$), 17,9% ($p \leq 0,05$), 17,9% ($p \leq 0,05$), 16,0% ($p \leq 0,05$) и 12,3% ($p \leq 0,05$) соответственно. Четвертая группа животных, которые принимали глифосат и «Гамавит», содержание общего белка и билирубина были выше показателя токсического контроля на 7,5% и 14,5% ($p \leq 0,05$); уровень АЛТ, АСТ, креатинина снижался на 10,9% ($p \leq 0,05$); 10,9% ($p \leq 0,05$) и 8,6%; содержание глюкозы и мочевины были ниже на 8,5% и 5,0% по сравнению с токсическим контролем. Пятая группа, которой задавали расторопшу с янтарной кислотой,

содержание общего белка и билирубина было выше показателя токсического контроля на 7,5% и 13,2% ($p \leq 0,05$); показатели глюкозы, АЛТ, АСТ, креатинина и мочевины были ниже токсического контроля на 7,6%, 10,5% ($p \leq 0,05$); 10,1% ($p \leq 0,05$); 8,0% и 3,9% соответственно. Повышение уровней щелочной фосфатазы, мочевины и креатинина в плазме крови также наблюдается схожим образом. Выявленные трансформации биохимических параметров свидетельствуют о вероятном возникновении гепато- и нефротоксического действия после применения глифосата. Наиболее эффективным способом коррекции этих состояний является проведение антитоксической терапии с применением лекарственного средства «Ветоспорин-Ж».

Заключение. Таким образом, на основании данных исследований динамики живой массы, гематологических и биохимических параметров у животных использование пробиотика «Ветоспорин-Ж» показало наилучшую эффективность в условиях воздействия глифосатом.

Список источников

1. Кузнецова Е.М., Чмил В.Д. Глифосат: поведение в окружающей среде и уровни остатков // Современные проблемы токсикологии. 2010. № 1. С. 87-94.
2. Липский С.И., Пантюхов И.В., Ивченко В.К. Эффективность гербицидов АО «Байер» в борьбе с сорными растениями в посевах зерновых культур // Вестник Краснояр. Гос. ун-та. 2018. № 3. С. 12-19.
3. Алеев, Д.В. Терапевтическая эффективность антитоксических веществ при интоксикации белых крыс ивермектином / Д.В. Алеев, Д.Н. Мингалеев, Н.Н. Мишина [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 3. – С. 10-14.
4. Егоров, В.И. Изучение сорбционных свойств различных сорбентов в отношении глифосата *in vitro* / В.И. Егоров, К.Е. Буркин, Д.В. Алеев [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 5. – С. 42-46.
5. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / А.Н. Миронов и др. // М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.
6. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. М.: Стандартинформ, 2016. 16 с.

References

1. Kuznetsova, E.M., and Chmil, V.D. Glyphosate: Environmental Behavior and Residue Levels // Modern Problems of Toxicology. 2010. No. 1. Pp. 87-94.
2. Lipsky S.I., Pantukhov I.V., Ivchenko V.K. The Effectiveness of Bayer Herbicides in the Control of Weeds in Cereal Crops // Bulletin of Krasnoyarsk State University. 2018. No. 3. Pp. 12-19.
3. Aleev, D.V. Therapeutic Effectiveness of Antitoxic Substances in Ivermectin Intoxication in White Rats / D.V. Aleev, D.N. Mingaleev, N.N. Mishina [et al.] // Veterinarian. – 2025. – No. 3. – Pp. 10-14.
4. Egorov, V.I. Study of sorption properties of various sorbents in relation to glyphosate *in vitro* // V.I. Egorov, K.E. Burkin, D.V. Aleev [et al.] // Veterinarian. – 2025. – № 5. – Pp. 42-46.
5. Mironov, A.N. Guide to conducting preclinical studies of medicines. Part one. / A.N. Mironov et al. // M.: Gryf i K, 2012. - 944 p.
6. GOST 33216-2014. Guidelines for the Care and Management of Laboratory Animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits. Moscow: Standartinform, 2016. 16 p.

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 13.03.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 57 – 64
The Veterinarian. 2026; (2): 57 – 64

Научная статья

УДК 619:637.3

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_57

АССОРТИМЕНТ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СЫРОВ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Айдар Ильдарович Гирфанов ¹, кандидат ветеринарных наук, *aidar-girfanov@mail.ru*

Гульшагида Булатовна Бозова ¹, *bgb985@mail.ru*

Оксана Викторовна Шлямина ², кандидат химических наук, *shlyamina@mail.ru*

Светлана Аркадьевна Семёнова ¹, кандидат ветеринарных наук, *lanochka-vet@mail.ru*

Анастасия Алексеевна Майорова ^{1,2}, *maiorovan2013@mail.ru*

Альбина Александровна Саматова ², *albinasamatova27@gmail.com*

Екатерина Николаевна Майорова ², кандидат биологических наук, *majorovaen83@mail.ru*

¹ Казанский государственный аграрный университет, Казань, Российская Федерация

² Федеральный Центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Екатерина Николаевна Майорова.

Аннотация. В работе проведено комплексное исследование ассортимента сыров российского производства с оценкой их качественных характеристик по органолептическим, физико-химическим и ветеринарно-санитарным показателям. Анализ подверглись марки сыров ведущих производителей Российской Федерации (ЮКМП, ГК «ВАМИН», сыродельный комбинат «Ичалковский», ГК «Ки-прино»). В исследовании использованы современные методы оценки качества сыров. Выпуск продукции хорошего качества, повышение её вкусовых и питательных ценностей, как в сыродельном производстве, так и в молочной промышленности обеспечивается микробиологическим контролем. В работе проведены исследования сыров на наличие бактерий группы кишечной палочки (БГКП), патогенных микроорганизмов, включая сальмонеллы, *L. monocytogenes*, *S. aureus*. Установлено, что отечественные производители выпускают продукцию высокого уровня, полностью соответствующую требованиям безопасности и качества, включая требования новых нормативных документов, вступивших в действие в 2025 году. Результаты исследования могут быть использованы для совершенствования технологических процессов, подготовки кадров и информирования потребителей о качественных характеристиках отечественных сыров.

Ключевые слова: сыр, ассортимент, качество, органолептическая оценка, ветеринарно-санитарная оценка

Для цитирования: Гирфанов А. И., Бозова Г. Б., Шлямина О. В., Семёнова С. А., Майорова А. А., Саматова А. А., Майорова Е. Н. Ассортимент и оценка качества сыров отечественного производства // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 57 – 64. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_57

ASSORTMENT AND QUALITY ASSESSMENT OF DOMESTIC PRODUCED CHEESES

Aidar I. Girfanov ¹, candidate of veterinary sciences, *aidar-girfanov@mail.ru*

Gulshagida B. Bozova ¹, *bgb985@mail.ru*

Oksana V. Shlyamina ², candidate of chemical sciences, *shlyamina@mail.ru*

Svetlana A. Semenova ¹, candidate of veterinary sciences, *lanochka-vet@mail.ru*

Anastasia Alekseevna Mayorova ^{1,2}, *maiorovan2013@mail.ru*

Albina A. Samatova ², *albinasamatova27@gmail.com*

Ekaterina N. Mayorova ², candidate of biological sciences, *majorovaen83@mail.ru*

¹ Kazan State Agrarian University, Kazan, Russian Federation

² Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Ekaterina N. Mayorova.

Abstract. The paper presents a comprehensive study of the assortment of Russian-made cheeses, evaluating their quality characteristics based on organoleptic, physical-chemical, and veterinary-sanitary indicators. The analysis focused on the leading cheese brands produced in the Russian Federation (YUKMP, VAMIN Group, Ichalkovsky Cheese Factory, and Kiprino Group). The production of high-quality products and the enhancement of their taste and nutritional value, both in cheese production and in the dairy industry, is ensured by microbiological control. The study included testing cheeses for the presence of coliform bacteria (CGB), pathogenic microorganisms, including salmonella, *L. monocytogenes*, and *S. aureus*. It has been established that domestic producers produce high-quality products that fully meet safety and quality requirements, including the requirements of new regulatory documents that came into effect in 2025. The results of this study can be used to improve technological processes, train personnel, and inform consumers about the quality characteristics of domestic cheeses.

Keywords: cheese, assortment, quality, organoleptic evaluation, veterinary and sanitary evaluation.

Введение. Молоко и молокопродукты – незаменимые компоненты ежедневного рациона россиян. Одним из важнейших молочных продуктов, обеспечивающих население высокобелковой продукцией с полным набором незаменимых аминокислот, является сыр. Пищевая ценность сыров обусловлена высокой концентрацией молочного белка и жира; наличием незаменимых аминокислот, солей кальция и фосфора; необходимых для нормального развития и функционирования организма человека [5]. Эти пищевые продукты, получают путем концентрирования и биотрансформации основных компонентов молока под воздействием энзимов микроорганизмов и физико-химических факторов. Производство сыров включает коагуляцию молока, отделение сырной массы от сыворотки, формирование, прессование под действием внешних нагрузок или собственного веса, посолку, а употребление в пищу производится сразу после выработки (в свежем виде) или после созревания при определенной температуре и влажности в анаэробных или аэробных условиях. Большинство сыров содержит высокое количество молочного жира (более 28 %), который существенно обогащает вкус продукта, так как обладает самой приятной среди других жиров вкусовой (сливочной) гаммой [9].

Ассортимент сыров на российском рынке достаточно обширен и многообразен. В настоящее время российский рынок сыроделия демонстрирует стабильный рост и развитие. Особую актуальность приобретает производство высококачественных сыров. [3, 7]. По прогнозам аналитиков, в 2030 году российские производители сыра смогут занять 80% отечественного рынка. В долгосрочной перспективе ожидается, что внутреннее производство сыра продолжит увеличиваться, и к 2030 году его объем может вырасти на 40%, достигнув 1,1 млн тонн, а потребление – 9 кг на душу населения. Таким образом, вопрос потенциала повышения выпуска сыра российскими производителями является крайне актуальным. Также следует отметить, что перспективное развитие экспортной деятельности в части производства сухой сыворотки и сывороточных продуктов из побочного продукта при производстве сыров позволит российским производителям расширить свое присутствие на международном рынке [4, 10].

Важным критерием в производстве сыров является качество – совокупность показателей, которые характеризуют свойства молока и молочных продуктов, их безопасность и пригодность к использованию. Оценка качества сыра — важная процедура, от правильности проведения которой зависит не только цена сыра конкретной партии, но и качество сыра последующих партий, поскольку правильное и своевременное выявление пороков сыра и разработка мер по их предотвращению способствуют повышению качества вырабатываемых сыров [1]. Качество сыров исследуется для подтверждения качества и безопасности продукции в соответствии с Техническим регламентом "О безопасности молока и молочной продукции" (ТР ТС 033/2013).

В ряде работ отечественных и зарубежных исследователей большое внимание уделено системному подходу при обеспечении безопасности выпускаемой продукции [6, 8]. Принципы системы выявления, анализа, контроля и управления рисками при изготовлении пищевой продукции, системы менеджмента и программ предварительных требований рассматриваются научным сообществом как эффективные инструменты, используемые для поэтапной проработки всего производственного цикла с целью соблюдения условий, минимизирующих появление рисков [2].

Крупнейшие производители сыра сосредоточены в различных регионах Российской Федерации: ООО «Юговской комбинат молочных продуктов» (Пермский край), ГК «ВАМИН» (Республика Татарстан), сыродельный комбинат «Ичалковский» (Республика Мордовия), ГК «Киприно» (Алтайский край).

Усиливающаяся конкуренция на внутреннем рынке молочной продукции обусловила необходимость разработки и применения более строгих требований к качеству сыров. С 1 января 2025 года

вступил в действие новый государственный стандарт ГОСТ Р 52686-2023 «Сыры. Общие технические условия», который установил принципиально новые подходы к регламентации производства и контроля качества сыров. Особенностью нового стандарта является усиление требований к микробиологической безопасности, расширение классификации по влажности обезжиренного вещества и введение более четких критериев органолептической оценки.

Цель исследований - проведение комплексной оценки ассортимента отечественных сыров различных видов с анализом их органолептических свойств, физико-химического состава и показателей безопасности в соответствии с действующим нормативно-правовым регулированием, а также определение практического значения полученных результатов для производства, розничной торговли и потребления.

Материалы и методы. Предметом исследования явились образцы сыров отечественного производства, представляющие три основные категории: твердые сыры (Российский, Костромской, Пошехонский, Эдам), рассольные сыры (Брынза) и полутвердые сыры. Образцы были отобраны от ведущих производителей Российской Федерации: ООО «Юговской комбинат молочных продуктов» (ЮКМП) – производитель сыра «Российский» (Пермский край); ГК «ВАМИН» – производитель различных сортов сыров (Республика Татарстан); Сыродельный комбинат «Ичалковский», СЗ «Сармич» – производитель сыра Эдам (Республика Мордовия); ГК «Киприно» – производитель рассольного сыра Брынза (Алтайский край); Барнаульский молочный комбинат – производитель твердых сыров; ТнВ «Сыр Стародубский» – производитель традиционных русских сыров (Брянская область).

Органолептическая оценка. Органолептическую оценку образцов сыров проводили в соответствии с ГОСТ 33630-2015 «Сыры и сыры плавленые. Методы контроля органолептических показателей» по 100-балльной системе. При проведении дегустации учитывались следующие показатели: Вкус и запах (максимально 45 баллов) – определяли наличие чистого сырного вкуса, выраженность аромата, наличие посторонних привкусов или запахов; Консистенция (максимально 25 баллов) – оценивали пластичность, эластичность, наличие крошливости или слипаемости; Рисунок сыра (максимально 10 баллов) – анализировали количество, размер, форму и равномерность глазок (для сыров, предусматривающих их наличие); Цвет теста (максимально 5 баллов) – определяли однородность окраски, соответствие стандартным требованиям; Внешний вид (максимально 10 баллов) – оценивали наличие дефектов поверхности, целостность упаковки; Упаковка и маркировка (максимально 5 баллов) – проверяли соответствие маркировки требованиям соответствующего стандарта.

По результатам органолептической оценки образцы классифицировали: Высший сорт – 87-100 баллов (по вкусу и запаху не менее 37 баллов); Первый сорт – 75-86 баллов.

Физико-химическое исследование. Определение основных физико-химических показателей проводилось согласно методам, указанным в ГОСТ Р 52686-2023 «Сыры. Общие технические условия»: Массовую долю влаги определяли высушиванием образца при 102 ± 2 °C до постоянной массы; Содержание жира в сыре определяли по ГОСТ 5867-2023 «Молоко и продукты переработки молока. Методы определения жира» или ГОСТ Р 51457-99 «Сыр и сыр плавленый. Гравиметрический метод определения массовой доли жира»; Массовую долю хлорида натрия определяли по ГОСТ 335690-2015 «Молочная продукция. Кондуктометрический метод определения массовой доли хлористого натрия» кондуктометрическим методом. Белковый состав анализировали расчетным методом на основе балансового уравнения. Массовую долю влаги в обезжиренном веществе вычисляли по формуле:

$$B_{об.в} = \frac{B}{100-X} \times 100, \text{ где } B - \text{массовая доля влаги в сыре, \%}; X - \text{массовая доля жира в сыре, \%}.$$

Ветеринарно-санитарная оценка. Микробиологические исследования проводились согласно требованиям ТР ТС 033/2013 «Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции»»; Определение бактерий группы кишечных палочек (БГКП) – по ГОСТ 32901-2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа»; Выявление патогенных микроорганизмов (*Salmonella spp.*) – по ГОСТ 31659-2024 «Микробиология пищевой цепи. Определение *Listeria monocytogenes* – по ГОСТ 32031-2022 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* и других видов *Listeria*»; Выявление *Staphylococcus aureus* – по ГОСТ 30347-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*».

Определение токсичных элементов проводили согласно следующим методикам: Свинец, кадмий, мышьяк – по ГОСТ 30178-96 «Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов», ГОСТ 30538-97 «Продукты пищевые. Методика определения токсичных элементов атомно-эмиссионным методом»; Ртуть – по ГОСТ 26927-96 «Сырье и продукты

пищевые. Методы определения ртути», ГОСТ 34427-2018 «Продукты пищевые и корма для животных. Определение ртути методом атомно-абсорбционной спектроскопии на основе эффекта Зеемана».

Результаты исследований и их обсуждение. Ассортимент и характеристика исследованных видов сыров. Сыр «Российский» (производитель ЮКМП) является классическим представителем полутвердых сыров российского производства. Согласно нормативной документации этот сыр характеризуется следующими основными параметрами: жирность: 50% в общей массе продукта, форма выпуска: брикет (400 г), в коробе по 24 штуки, срок годности: не более 120 суток при температуре хранения 0 - 6 °С, способ формования: насыпной. Органолептические свойства: вкус классический, нежный, без остроты. Консистенция пластичная, однородная. Цвет теста от белого до светло-кремового. Химический состав (на 100 г продукта): белки: 23 г, жиры: 29 г, углеводы: 0 г, калорийность: 360 ккал, витамин В₁₂: 1,54 мкг (51,3 % от суточной нормы), кальций, фосфор, железо – в значительных количествах. Благодаря полутвердой консистенции и умеренной жирности, подходит для всех видов использования – от самостоятельного потребления до кулинарной обработки.

Сыр «Костромской» является одним из наиболее распространённых твердых сыров России. Согласно нормативной документации: жирность: 45 % в сухом веществе, основная форма выпуска: низкие слегка выпуклые цилиндры массой 3,5-7,5 кг, период созревания: не менее 45 суток. Внешний вид и рисунок: однородный цвет от белого до светло-жёлтого, рисунок на разрезе с небольшими глазками округлой формы. Вкусовой профиль: слегка терпкий, кисловатый вкус с мягким сырным ароматом. Консистенция – эластичная, пластичная, однородная по всей массе. Химический состав имеет типичные значения, а именно: белки: 25-27 %, жиры: 30-35 %, углеводы: отсутствуют или менее 0,5%. Минеральный состав включает железо, калий, серу, цинк, магний, марганец, медь, фосфор, натрий и особенно значительное содержание кальция.

Сыр «Пошехонский» – твёрдый сычужный сыр, разработанный в 1960-х годах на основе научных исследований П.А. Авдиенко и Р.Э. Герлаха. Имеет жирность 45 % в пересчёте на сухое вещество, форма выпуска: круглые головки массой 3,5-7 кг, период созревания: 30 суток (у некоторых производителей доходит до 45), способ формования: низкая температура второго нагревания. Органолептические показатели: вкус чистый, умеренно выраженный, сырный со слегка пряными и кисловатыми нотками. Цвет – от белого до светло-жёлтого. На разрезе видны небольшие круглые или овальные глазки. Технология производства Пошехонского сыра отличается особым режимом тепловой обработки сгустка. Молоко созревает 12 часов при повышении его кислотности до 2 °Т, что обеспечивает более крупный размер молекул белка, снижение окислительно-восстановительного потенциала, а также увеличение содержания растворимых солей кальция. Эти факторы способствуют быстрому свертыванию молока и повышению выхода готового продукта.

Сыр «Эдам» является голландским полутвёрдым сыром, однако в России активно развивается его производство, особенно после введения импортных ограничений в 2014 году. Производитель сыра в России: сыродельный комбинат «Ичалковский» выпускает этот сыр в форме шара массой 1,7 кг. Готовый продукт имеет следующие характеристики: жирность: 40-50 % в сухом веществе, консистенция: пластичная, нежная, однородная, вкус и аромат: умеренно выраженные, сырные, с легкой кислинкой, цвет: от почти белого до светло-жёлтого, период созревания: минимум 21 сутки, обычно 45–60 суток. Молодой Эдам неострый и слегка сладковатый с пикантным вкусом. По мере созревания сыр становится более сухим и солёным, его вкус интенсифицируется. Состав (на 100 г): калорийность 351-362 ккал, белки высокого качества, жиры в оптимальном соотношении.

Сыр «Брынза» – традиционный мягкий рассольный сыр, по технологии близкий к адыгейскому сыру. Производство в России налажено несколькими крупными предприятиями, включая ГК «Киприно» (Алтайский край). Характеристики продукции: жирность: 45 %, период созревания: развивается в рассоле, консервант: исключительно поваренная соль (без искусственных консервантов), срок годности: 25 суток при температуре 0-6 °С и влажности воздуха 80-85 %. Состав: молоко цельное, молоко обезжиренное, соль поваренная, хлорид кальция, закваска мезофильных молочнокислых микроорганизмов, молокосвёртывающий сычужный фермент. Органолептические показатели: мягкая консистенция, нежный молочный запах, ярко выраженный сливочный вкус. Структура сыра однородная благодаря специальной рецептуре. Выход брынзы значительно варьируется в зависимости от вида используемого молока: на килограмм сыра может уйти более 15 литров коровьего молока или только около 5 литров овечьего молока (в связи с его большей жирностью и кислотностью).

Органолептическая оценка качества. На основе проведённых органолептических испытаний проведен сравнительный анализ образцов сыров. Результаты показывают высокий уровень качества всех исследованных образцов (таблица 1).

Анализ результатов показывает, что все образцы сыров соответствуют установленным стандартам качества. Образцы Костромского сыра и Эдама, достигнув 88 баллов, продемонстрировали максимальные показатели качества по органолептическим параметрам, свидетельствуя о надлежащей технологии производства и постоянном соблюдении нормативных требований.

Таблица 1 – Результаты органолептической оценки

Сыр	Российский	Костромской	Пошехонский	Эдам (Ичалки)	Брынза
Производитель	ЮКМП	"Киприно"	Комбинат	"Ичалковский"	"Киприно"
Вкус / запах	40	41	39	42	38
Консистенция	23	24	22	24	20
Рисунок	8	9	8	8	—
Цвет	5	5	4	5	4
Внешний вид	9	9	8	9	8
Итого баллов	85	88	81	88	70
Сорт	Первый	Высший	Первый	Высший	Первый

*примечание: оценка производилась в условиях температуры воздуха (20±2) °С при температуре анализируемого сыра (18±2) °С.

Оценка пищевой ценности основных образцов. Результаты анализа химического состава сыров представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Анализ химического состава сыров (на 100 г продукта)

Показатель	Российский	Костромской	Пошехонский	Эдам	Брынза
Белки, г	24,1	26,5	25,4	24,6	19, 2
Жиры, г	29,5	31,3	31,2	29,3	22,5
Углеводы, г	0,3	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Калорийность, ккал	360	380–400	370–390	351–362	280–320
Кальций, мг	Высокое содержание	Высокое	Высокое	Высокое	Среднее
Фосфор, мг	Высокое	Высокое	Высокое	Высокое	Среднее

Высокое содержание белков в твердых сырах (24-27 г на 100 г) делает их ценным источником полноценных белков животного происхождения. Все исследованные образцы содержат полный спектр незаменимых аминокислот, включая лизин, триптофан и метионин. По биологической ценности молочные белки находятся на одном уровне с мясом, однако более полно и быстро усваиваются организмом. Содержание витамина В₁₂ в сыре составляет 40-50% суточной нормы, что имеет особое значение для профилактики анемии.

Согласно нормативным документам, жировая фаза сыров должна содержать только молочный жир. Все исследованные образцы производятся из молока отечественного происхождения и соответствуют требованиям стандарта по жировому составу. Молочный жир в сырах характеризуется оптимальным содержанием полиненасыщенных жирных кислот, включая линолевую и линоленовую кислоты, которые относятся к незаменимым компонентам питания. Жиры сыра активно участвуют в усвоении жирорастворимых витаминов (А, D, Е, К) и способствуют нормальному функционированию организма.

Исследованные образцы сыров распределены по классификации (ГОСТ Р 52686-2023) следующим образом:

- 1) по продолжительности созревания:
 - сыры молодые: Пошехонский (30–45 суток), Эдам (45–60 суток);

- сыры зрелые: Костромской (более 45 суток);
 - сыры без созревания: Брынза (свежий рассольный сыр).
- 2) по влажности обезжиренного вещества ($V_{об.в.}$) (таблица 3):

Таблица 3 – Влажность обезжиренного вещества исследуемых образцов

Сыр	Влажность (%)	Жиры (%)	$V_{об.в.}$ (%)	Категория
Российский	43,4	30,6	45,7	Полутвердый
Костромской	36,5	31,4	39,6	Твёрдый
Пошехонский	37,3	31,5	40,4	Твёрдый
Эдам	39,6	29,4	43,5	Полутвердый
Брынза	52,5	22,5	64,5	Мягкий

- 3) по жирности в пересчёте на сухое вещество:
- жирные (45-50%): большинство образцов
 - полужирные (35-45%): брынза при минимальной жирности.

В результате проведенной санитарно-микробиологической оценки показателей качества сыров было установлено, что все исследуемые образцы, соответствуют требованиям безопасности ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции». Образцы не содержали бактерии группы кишечной палочки (БГКП), патогенных микроорганизмов, включая сальмонеллы, *L. monocytogenes*, *S. aureus*.

При производстве исследованных сыров используется следующее основное и вспомогательное сырьё. Основное сырьё: молоко коровье пастеризованное и нормализованное по содержанию жира, молоко обезжиренное, молоко сухое распылительной сушки, сливки. Также используются функционально необходимые компоненты: закваски бактериальные (мезофильные молочнокислые микроорганизмы — по ГОСТ 34372-2017 «Закваски бактериальные для производства молочной продукции. Общие технические условия»), ферменты молокосвёртывающие животного происхождения (сычужный фермент), а также для отдельных видов: культуры плесеней (*Penicillium roqueforti*, *Penicillium glaucum*). Вспомогательные вещества: соль пищевая (не йодированная) по ГОСТ Р 51574-2018 «Соль пищевая. Общие технические условия», хлорид кальция (E509) — по ГОСТ Р 55973-2014 «Добавки пищевые. Кальция хлорид E509. Технические условия»; консерванты (для поверхностной обработки): нитрат натрия (E251) - по ГОСТ 34098-2017 «Натрия нитрат E251. Технические условия», нитрат калия (E252) - по ГОСТ 33765-2016 «Добавки пищевые. Калия нитрат E252. Технические условия», сорбиновая кислота (E200) - по ГОСТ 32779-2014 «Добавки пищевые. Кислота сорбиновая E200. Технические условия»; красители натуральные: β -каротин (E160a), экстракт аннато (E160b). Все компоненты отбираются в соответствии с требованиями безопасности и качества, установленными нормативно-технической документацией.

Комплексное исследование ассортимента сыров отечественного производства, проведённое с применением современных методов органолептического анализа, физико-химического исследования и ветеринарно-санитарной экспертизы, позволило установить, что отечественные производители выпускают широкий спектр сыров различных категорий (твёрдые, полутвёрдые, рассольные), полностью соответствующих как традиционным рецептурам, так и современным требованиям государственных стандартов. При проведении органолептической оценки все исследованные образцы продемонстрировали соответствие требованиям первого или высшего сорта, при этом образцы Костромского сыра и Эдама, достигнув максимального балла в 88 пунктов из 100, продемонстрировали превосходное качество, характеризующееся гармоничным вкусо-ароматическим профилем, оптимальной консистенцией и правильным рисунком сыра.

В области пищевой ценности твёрдые и полутвёрдые сыры зарекомендовали себя как концентрированный источник полноценных белков животного происхождения, содержащих от 24 до 27 граммов на 100 граммов продукта в форме, обеспечивающей более полное и быстрое усвоение по сравнению с другими источниками белков. Жировая фаза сыров (30–32 г/100 г) характеризуется оптимальным соотношением полиненасыщенных жирных кислот, необходимых для нормального функционирования организма. Содержание кальция и фосфора находится в физиологически оптимальном соотношении, что обеспечивает их максимальную биодоступность, а количество витамина В₁₂ (40–50% суточной нормы) имеет существенное значение для профилактики дефицитных состоя-

ний. Все исследованные образцы содержат полный набор незаменимых аминокислот, включая лизин, триптофан и метионин, что подтверждает биологическую полноценность сыров отечественного производства.

Заключение. Проведённое комплексное исследование подтверждает, что отечественные производители сыра, представленные в исследовании крупнейшими производственными кооперативами и молочными комбинатами различных регионов Российской Федерации, выпускают продукцию высокого качества, отвечающую требованиям безопасности, установленным современным законодательством в области пищевой продукции.

Список источников

1. Делицкая, И.Н. Особенности проведения органолептической оценки сыров / И.Н. Делицкая, В.А. Мордвинова, И.В. Логинова // Технический оппонент. – 2023. – № 3. – С. 37-40.
2. Динер, Ю.А. Процесс планирования безопасности при производстве сыра с ягодным наполнителем / Ю.А. Динер, Н.А. Юрк // Продовольственная политика и безопасность. – 2024. – Том 11. – № 1. – С. 213–228.
3. Дурнов, М.А. Современные тенденции развития отрасли сыроделия / М.А. Дурнов, Е.А. Калинин // Учетно-аналитическое, налоговое и финансовое обеспечение развития АПК: Сборник статей IV Международной научно-практической конференции, Саратов, 01 ноября 2024 года. – Саратов: Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова, 2024. – С. 44-47.
4. Ковалева, И. В. Тенденции развития отрасли сыроделия / И.В. Ковалева, М.Г. Кудинова // Инновационная экономика: информация, аналитика, прогнозы. – 2024. – № 1. – С. 184-193.
5. Криштафович, Д.В. Качество отечественных сыров, заменяющих импортные аналоги / Д.В. Криштафович, В.И. Криштафович // Материалы IX Международной научно-практической конференции (20 апреля 2023 г.). – М.: Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, 2023. – С. 244-247.
6. Муртазина, З. Д. Оценка качества сырого молока по токсикологическим показателям / З. Д. Муртазина, Э. Ф. Фасхутдинова, О. В. Шлямина, Г.Ф. Ахметзянова, А.А. Корчемкин, И.Ф. Вафин, З.Х. Сагдеева // Ветеринарный врач. – 2025. – № 4. – С. 64-68.
7. Рыбченко, Т.В. Региональное развитие российского сыроделия / Т.В. Рыбченко, С.А. Коновалов, А.А.Дерканосова, К.К. Полянский // Вестник ВГУИТ. 2025. Т. 87. № 1. С. 149–156.
8. Саматова, А.А. Микробиологический контроль качества продуктов питания животного происхождения / А.А. Саматова, О.В. Шлямина, М.Ю. Галлямова // Ветеринарный врач. 2025. № 4. С. 69-73
9. Степанова, Л.И. Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры/ Л.И. Степанова. – 2-е изд. – СПб: ГИОРД, 2003. – 384 с.
10. Сурай, Н.М. Маркетинговый анализ рынка сыров Москвы и Московской области / Н.М. Сурай, С.В. Панасенко // Практический маркетинг. – 2025. – № 5(335). – С. 34-40.

References

1. Delitskaya, I.N. Features of the organoleptic evaluation of cheeses / I.N. Delitskaya, V.A. Mordvinova, I.V. Loginova // Technical opponent. - 2023. - No. 3. - P. 37-40.
2. Diner, Yu.A. Safety planning process in the production of cheese with berry filler / Yu.A. Diner, N.A. Yurk // Food policy and security. - 2024. - Vol. 11. - No. 1. - P. 213-228.
3. Durnov, M.A. Modern trends in the development of the cheese-making industry / M.A. Durnov, E.A. Kalinichev // Accounting and analytical, tax and financial support for the development of the agro-industrial complex: Collection of articles from the IV International Scientific and Practical Conference, Saratov, November 1, 2024. - Saratov: Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, 2024. - P. 44-47.
4. Kovaleva, I. V. Trends in the Development of the Cheese-Making Industry / I. V. Kovaleva, M. G. Kudinova // Innovative Economy: Information, Analytics, Forecasts. - 2024. - No. 1. - Pp. 184-193.
5. Kristofovich, D. V. Quality of Domestic Cheeses Replacing Imported Analogues / D. V. Kristofovich, V. I. Kristofovich // Proceedings of the IX International Scientific and Practical Conference (April 20, 2023). - Moscow: Plekhanov Russian University of Economics, 2023. - Pp. 244-247.

6. Murtazina, Z. D. Evaluation of the quality of raw milk by toxicological indicators / Z. D. Murtazina, E. F. Faskhutdinova, O. V. Shlyamina, G. F. Akhmetzyanova, A. A. Korchemkin, I. F. Vafin, Z. Kh. Sagdeeva] // *Veterinary doctor*. - 2025. - No. 4. - P. 64-68.
7. Rybchenko, T. V. Regional development of Russian cheese making / T. V. Rybchenko, S. A. Konovalov, A. A. Derkanosova, K. K. Polyansky // *Bulletin of VSUET*. 2025. Vol. 87. No. 1. P. 149-156.
8. Samatova, A. A. Microbiological quality control of food products of animal origin / A. A. Samatova, O. V. Shlyamina, M. Yu. Galliamova // *Veterinary Doctor*. 2025. No. 4. P. 69-73
9. Stepanova, L.I. Dairy Production Technologist's Handbook. Technology and Recipes / L.I. Stepanova. – 2nd ed. – St. Petersburg: GIOR, 2003. – 384 p.
10. Suray, N.M. Marketing Analysis of the Cheese Market in Moscow and the Moscow Region / N.M. Suray, S.V. Panasenko // *Practical Marketing*. - 2025. - No. 5 (335). - Pp. 34-40.

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 09.02.2026;

© Гирфанов А. И., Бозова Г. Б., Шлямина О. В., Семёнова С. А., Майорова А. А., Саматова А. А., Майорова Е. Н. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 65 – 71
The Veterinarian. 2026; (2): 65 – 71

Научная статья
УДК 664.931:641.4
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_65

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА ХРАНЕНИЯ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ ПАСТЕРИЗОВАННЫХ МЯСНЫХ КОНСЕРВОВ

Ольга Александровна Минькова, *minkowa.olga2012@ya.ru*
Алиса Ришатовна Башарова, *basharovaalisa@yandex.ru*
Татьяна Евгеньевна Денисенко, кандидат биологических наук, *denisenkote@yandex.ru*
Анна Алексеевна Метла, *laoshi.riben@mail.ru*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Ольга Александровна Минькова.

Аннотация. Пастеризованные мясные консервы («Ветчина любительская», «Говядина пастеризованная» и др.) популярны благодаря высоким органолептическими свойствами и лучшей сохранности питательных веществ по сравнению со стерилизованными аналогами. Однако щадящая термическая обработка не позволяет достичь полной стерильности продукта. В пастеризованных мясных консервах присутствует остаточная микрофлора, представленная спорами бактерий родов *Bacillus*, *Clostridium*, а также психротрофными микроорганизмами, источником которых может быть сырье. Наличие остаточной микрофлоры делает продукцию микробиологически нестабильной, требующей строгих условий хранения. Температурный режим является основным фактором, определяющим динамику развития микрофлоры, её видовой состав и, в итоге, срок годности продукта. Показано, что рост психротрофных бактерий (например, *Brochothrix spp.*, *Pseudomonas spp.*), являющихся основными контаминантами пастеризованных мясных консервов, резко ускоряется при повышении температуры. При отклонениях от регламентированных условий в продуктах увеличивается количество мезофильных микроорганизмов, дрожжей (*Candida spp.*) и плесеней, которые вызывают микробиологическую порчу консервы задолго до истечения номинального срока годности. Колебания температуры часто возникающие в процессе транспортировки товара способствуют развитию спорообразующих патогенов, таких как *Bacillus cereus*. При условии строгой регламентации условий хранения (ТР ТС 034/2013) пастеризованных мясных консервов, в реальной практике логистики и розничной торговли, особенно в тёплый сезон, могут происходить нарушения температурного режима хранения продукции. На фоне различия регламента и реальных условий хранения существует необходимость экспериментального обоснования критических температурных границ и анализа их влияния на микробиологическую стабильность пастеризованных мясных консервов. Целью работы является изучение влияния температуры хранения на динамику микробиологических показателей пастеризованных мясных консервов.

Ключевые слова: пастеризованные мясные консервы, КМАФАнМ, температура хранения, срок годности, холодильная цепь, микробиологическая стабильность, пищевая безопасность

Для цитирования: Минькова О. А., Башарова А. Р., Денисенко Т. Е., Метла А. А. Влияние температурного режима хранения на микробиологическую безопасность пастеризованных мясных консервов // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 65 – 71. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_65

THE INFLUENCE OF STORAGE TEMPERATURE ON THE MICROBIOLOGICAL SAFETY OF PASTEURIZED CANNED MEAT

Olga A. Minkova, *minkowa.olga2012@ya.ru*
Alisa R. Basharova, *basharovaalisa@yandex.ru*
Tatyana E. Denisenko, Candidate of Biological Sciences, *denisenkote@yandex.ru*

Federal State Budgetary Educational Institution "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA named after K. I. Skryabin", Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Olga Aleksandrovna Minkova.

Abstract. Pasteurized canned meats (such as "Lyublyutskaya Ham," "Pasteurized Beef," etc.) are popular due to their superior organoleptic properties and better nutrient preservation compared to sterilized alternatives. However, gentle heat treatment does not ensure complete product sterility. Pasteurized canned meats contain residual microflora, represented by bacterial spores of the genera *Bacillus* and *Clostridium*, as well as psychrotrophic microorganisms, which may originate from the raw materials. The presence of residual microflora makes the product microbiologically unstable, requiring strict storage conditions. Temperature is the primary factor determining the dynamics of microflora development, its species composition, and, ultimately, the shelf life of the product. It has been shown that the growth of psychrotrophic bacteria (e.g., *Brochothrix* spp., *Pseudomonas* spp.), which are the main contaminants of pasteurized canned meats, accelerates sharply with increasing temperature. Deviations from specified conditions in products increase the number of mesophilic microorganisms, yeasts (*Candida* spp.), and molds, which cause microbiological spoilage of the canned goods long before the expiration date. Temperature fluctuations that frequently occur during product transportation facilitate the development of spore-forming pathogens such as *Bacillus cereus*. Despite strict storage conditions (TR CU 034/2013) for pasteurized canned meat, violations of the storage temperature regime may occur in real-life logistics and retail environments, especially during the warm season. Given the discrepancy between regulations and actual storage conditions, there is a need for experimental substantiation of critical temperature limits and an analysis of their impact on the microbiological stability of pasteurized canned meat. The aim of this study is to study the influence of storage temperature on the dynamics of the microbiological parameters of pasteurized canned meat.

Keywords: pasteurized canned meat, TMAC, storage temperature, shelf life, cold chain, microbiological stability, food safety

Введение. Пастеризованные мясные консервы («Ветчина любительская», «Ветчина особая», «Говядина пастеризованная» и др.) занимают значительную долю рынка мясной продукции, что обусловлено их высокими органолептическими свойствами и большей сохранностью питательных веществ по сравнению со стерилизованными аналогами [1, 2]. Однако более щадящий режим термической обработки, применяемый при их производстве, не обеспечивает полной стерильности продукта, способствуя сохранению остаточной микрофлоры, преимущественно спорообразующих бактерий родов *Bacillus* и *Clostridium*, а также психротрофных микроорганизмов, поступающих из сырья [3, 4]. Наличие подобной микрофлоры делает пастеризованные консервы продуктами с ограниченным сроком годности, требующими строгого контроля условий хранения.

Основным фактором, определяющим динамику микробиологического состояния и, как следствие, безопасность и срок годности данной продукции, является температура хранения. Согласно стандартным рекомендациям, хранение при температуре, близкой к +4 °C, существенно ингибирует рост большинства микроорганизмов. В то же время установлено, что повышение температуры до +10 °C ускоряет рост микрофлоры в 2–3 раза, а до +20...+25 °C — в 5–7 раз [4, 5]. Так, переход от +4 °C к +15 °C может привести к трёхкратному увеличению количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), а при +25 °C — к восьмикратному и более [5].

При низких температурах хранения доминирующую роль в процессах порчи пастеризованных консервов играют психротрофные бактерии, такие как *Brochothrix thermosphacta* и представители рода *Pseudomonas* (включая *P. fluorescens*), способные к активному размножению и образованию биоплёнок даже в охлаждённых продуктах [6]. При нарушении температурного режима и прогреве продукции выше +15 °C активизируются мезофильные микроорганизмы, дрожжеподобные микроскопические грибы (например, *Candida* spp.) и плесени, скорость роста которых резко возрастает [7]. Дополнительным риском является возможность развития спорообразующих бактерий, таких как *Bacillus cereus*, чья активность возрастает при температурных колебаниях, например, в процессе транспортировки. Таким образом, микробиологическая стабильность пастеризованных мясных консервов зависит не только от качества производства, но и от строгого соблюдения холодильной цепи на всех этапах технологического процесса от производства до реализации [5]. В практике логистики и розничной торговли, особенно в тёплый сезон, нередки случаи хранения продукции при температурах, значительно превышающих рекомендуемые (0...+4 °C). Даже кратковременное превышение температу-

ры хранения создаёт риск микробиологической порчи пастеризованных консервов ещё до истечения декларированного производителем срока годности. Таким образом, существует необходимость экспериментального обоснования критических температур хранения, превышение которых создаёт, приводит к микробиологической порче продукции.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния температурного режима хранения на динамику микробиологических показателей пастеризованных мясных консервов. Для достижения поставленной цели были решены представленные ниже задачи:

- ✓ определить исходное количество МАФАнМ в исследуемых образцах пастеризованных мясных консервов;
- ✓ изучить динамику изменения КМАФАнМ при хранении в трёх смоделированных температурных режимах: +4 °С (стандартный), +15 °С (имитация нарушения холодовой цепи) и +25 °С (значительное отклонение температурного режима хранения);
- ✓ провести статистический анализ влияния температуры хранения на количество МАФАнМ в продукте;
- ✓ на основании экспериментальных данных рассчитать прогнозируемый срок микробиологической стабильности пастеризованного продукта для каждого исследуемого температурного режима.

Проведённое исследование позволило получить новые экспериментальные данные о динамике роста остаточной микрофлоры в пастеризованных мясных консервах в условиях, моделирующих типичные нарушения холодовой цепи, и количественно обосновать требования к температурному контролю.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали два наименования пастеризованных мясных консервов промышленного производства в жестяных банках: мясной паштет и ветчина пастеризованная. Продукция была приобретена в торговых точках г. Москвы. На момент начала эксперимента все образцы соответствовали требованиям ТР ТС 034/2013. «О безопасности мяса и мясной продукции» и хранились при температуре +4 °С в соответствии с рекомендациями производителей.

Эксперимент проводили в учебной лаборатории кафедры вирусологии и микробиологии имени академика В.Н. Сюриня ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Случайным образом отбирали по 15 банок каждого наименования консервов, которые распределяли для хранения в трёх температурных режимах, моделирующих условия обращения продукции:

+4 °С – рекомендованный режим хранения (контроль);

+15 °С – режим, имитирующий условия складских помещений, транспортировки или временного нарушения холодовой цепи;

+25 °С – режим значительного отклонения, характерный для тёплых торговых залов, бытового хранения без охлаждения или летнего периода.

Каждую банку помещали в индивидуальный пластиковый контейнер для поддержания стабильной влажности и предотвращения контакта упаковок. Температуру контролировали с помощью цифровых термометров с функцией регистрации минимальных и максимальных значений.

Продолжительность эксперимента составила 14 суток. Отбор проб для микробиологического анализа проводили на 0, 3, 7, 10 и 14-е сутки хранения. Для каждого срока хранения (0, 3, 7, 10, 14 суток) из каждой температурной группы (+4, +15, +25 °С) и для каждого вида консервов отбирали по три независимые банки (биологическая повторность, $n=3$ на группу). Таким образом, для каждой комбинации «температура × вид продукта × срок» было проанализировано три параллельных образца. Вся работа выполнялась в соответствии с общими требованиями ГОСТ ISO 7218-2015 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям». Выбор методов микробиологического контроля соответствовал современным подходам, изложенным в [8].

Подготовку проб проводили по ГОСТ ISO 6887-1-2015 «Микробиология пищевой продукции и кормов. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования. Часть 1». Общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли методом глубинного посева серийных десятикратных разведений в питательном агаре в соответствии с ГОСТ 10444.15-94 «Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)». Посевы инкубировали при температуре 30 °С в течение 72 часов. Подсчёт колониеобразующих единиц (КОЕ) проводили на чашках с числом колоний от 30 до 300 и

пересчитывали на 1 г продукта (КОЕ/г). Каждое определение выполняли в трёх аналитических (технических) повторностях.

Обработка и статистический анализ данных. Полученные количественные данные по КМАФАнМ преобразовывали в десятичные логарифмы ($\log_{10}$ КОЕ/г) для нормализации распределения. Результаты выражали в виде среднего арифметического (М) и стандартного отклонения (SD). Для анализа статистической значимости различий между группами образцов, хранившихся при разных температурах, применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). В случаях выявления значимых различий проводили пост-хок сравнение с использованием теста Тьюки (Tukey HSD). Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Статистическую обработку проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel.

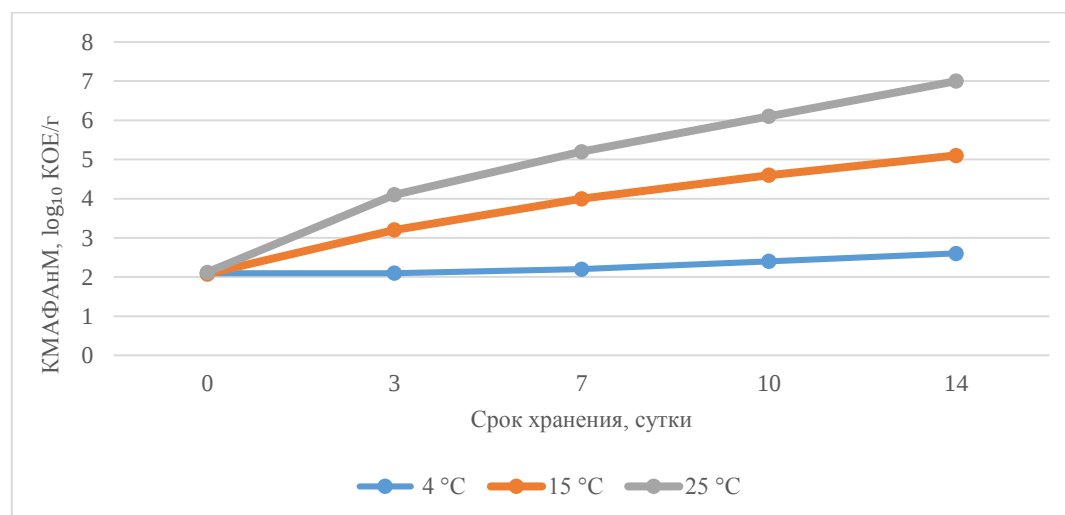
Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследования динамики общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в пастеризованных мясных консервах при различных температурных режимах хранения представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика КМАФАнМ $\log_{10}$ КОЕ/г в пастеризованных мясных консервах при различных температурных режимах хранения (М $\pm$ SD)

Срок хранения (сутки)	Температура хранения		
	+4 °C	+15 °C	+25 °C
0	2,10 $\pm$ 0,05	2,08 $\pm$ 0,06	2,12 $\pm$ 0,04
3	2,10 $\pm$ 0,08	3,20 $\pm$ 0,10	4,10 $\pm$ 0,12
7	2,20 $\pm$ 0,09	4,00 $\pm$ 0,15	5,20 $\pm$ 0,18
10	2,40 $\pm$ 0,10	4,60 $\pm$ 0,20	6,10 $\pm$ 0,22
14	2,60 $\pm$ 0,12	5,10 $\pm$ 0,25	7,00 $\pm$ 0,30
Примечание: результаты представлены как средние значения (М) технических повторов (n = 3) для каждой группы $\pm$ стандартное отклонение (SD).			

Для наглядности динамика изменения общего микробного числа представлена на рисунке 1.

Рисунок 1 – Динамика общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ, $\log_{10}$ КОЕ/г) в пастеризованных мясных консервах при хранении в различных температурных режимах



На рисунке 1 отчётливо видно, что при температуре +4 °C рост остаточной микрофлоры остаётся минимальным на протяжении всего периода хранения. При +15 °C наблюдается ускоренное увеличение показателя, а при +25 °C рост становится экспоненциальным уже на 3-и сутки.

Полученные кривые показывают, что при температурах выше оптимальных значений, установленных производителем и обеспечивающих микробиологическую стабильность (как того требует ТР ТС 034/2013), происходит значительное снижение стабильности продукта. При +25 °C показатель КМАФАнМ превышает критическое значение (обычно около 5,0 $\log_{10}$ КОЕ/г) к 7 суткам, что свидетельствует о небезопасности продукта [9].

Перед статистической обработкой все количественные результаты (КОЕ/г) были преобразованы в десятичные логарифмы ($\log_{10}$), что позволило снизить асимметрию распределения и применить параметрические методы статистики [10]. Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и последующего пост-хок теста Тьюки представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты дисперсионного анализа (ANOVA) и пост-хок теста Тьюки для показателя КМАФАнМ ($\log_{10}$ КОЕ/г) при различных температурных режимах хранения консервов

Срок хранения (сутки)	Результаты ANOVA (F; p)	Результаты пост-хок теста (Тьюки)
3	$F(2,6) = 12,45; p < 0,05$	$+25\text{ }^{\circ}\text{C} > +15\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,05); +25\text{ }^{\circ}\text{C} > +4\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,05);$ различия между $+15\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ незначимы ($p > 0,05$)
7	$F(2,6) = 45,67; p < 0,01$	$+25\text{ }^{\circ}\text{C} > +15\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,05); +25\text{ }^{\circ}\text{C} > +4\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,05);$ различия между $+15\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ на грани значимости ($p \approx 0,05$)
10	$F(2,6) = 189,32; p < 0,001$	$+25\text{ }^{\circ}\text{C} > +15\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,05); +25\text{ }^{\circ}\text{C} > +4\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,001); +15\text{ }^{\circ}\text{C} > +4\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,05)$
14	$F(2,6) = 686,29; p < 0,001$	$+25\text{ }^{\circ}\text{C} > +15\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,01); +25\text{ }^{\circ}\text{C} > +4\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,001); +15\text{ }^{\circ}\text{C} > +4\text{ }^{\circ}\text{C} (p < 0,01)$
Примечание: все различия указаны при уровне значимости $p < 0,05$.		

Как видно из таблицы 2, на 14-е сутки различия между всеми температурными режимами были статистически значимы ($p < 0,01$), что подтверждает влияние температурного режима хранения консервов на увеличение КМАФАнМ.

Для практического прогноза срока годности использовали упрощённую линейную модель, основанную на среднесуточном приращении $\log_{10}$ КМАФАнМ между 0 и 14 сутками (таблица 3). В качестве порогового значения, соответствующего микробиологической порче, был принят уровень $7 \log_{10}$ КОЕ/г (10^7 КОЕ/г), при котором наблюдается выраженное ухудшение органолептических свойств [5, 6].

Таблица 3 – Расчёт среднесуточного приращения КМАФАнМ ($\log_{10}$ КОЕ/г) и прогнозируемого срока достижения порогового уровня ($7 \log_{10}$ КОЕ/г) при различных температурных режимах хранения пастеризованных мясных консервов

Температура хранения ($^{\circ}\text{C}$)	Значение $\log_{10}$ на 0-е сутки (M_0)	Значение $\log_{10}$ на 14-е сутки (M_{14})	Среднесуточное приращение ($\Delta \log/\text{сут}$)	Прогнозируемый срок достижения порога $7 \log_{10}$ (сутки)
+4	2,10	3,00	0,0643	$\approx 76,2$
+15	2,08	5,10	0,2157	$\approx 22,8$
+25	2,12	7,00	0,3486	$\approx 14,0$
Примечание — расчёт выполнен по упрощённой линейной модели: $\Delta = (M_{14} - M_0) / 14$; $t = (7 - M_0) / \Delta$.				

Согласно расчётам, хранение при $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ сохраняет микробиологическую стабильность продукта теоретически более 2 месяцев. При повышении температуры до $+15\text{ }^{\circ}\text{C}$ срок хранения сокращается до приблизительно трёх недель, а при $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ - до двух недель, что подтверждается эмпирическими данными (таблица 1). Эти результаты согласуются с современными исследованиями, указывающими на резкое ускорение роста микрофлоры при нарушении холодового режима [5, 6, 7].

Бактериологическим методом были выделены и идентифицированы по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам до рода типичные представители остаточной микрофлоры. При $+4...+15\text{ }^{\circ}\text{C}$ доминировали психротрофные бактерии *Brochothrix spp.* и *Pseudomonas spp.*, источником которых может быть охлаждённое мясо [9, 10]. При $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ отмечалось увеличение доли дрожжей (*Candida spp.*) и плесеней (*Penicillium spp.*), что сопровождалось заметными органолептическими изменениями уже на 7–10 сутки. Спорообразующие бактерии (*Bacillus spp.*) присутствовали как устойчивые формы, способные к активации при тепловом стрессе [1, 4].

Наблюдаемая зависимость скорости роста остаточной микрофлоры от температуры хранения закономерна с биохимической точки зрения: повышение температуры продукта ускоряет метаболические и ферментативные процессы в микробных клетках, приближая условия среды к температурному оптимуму роста для мезофильных микроорганизмов [1]. Состав продукта (высокая питательная ценность, нейтральный pH, высокая активность воды) и герметичная металлическая упаковка создают благоприятные условия для развития остаточной микрофлоры при отсутствии температурного контроля [2, 9].

Полученные данные подтверждают, что даже кратковременные нарушения холодовой цепи существенно снижают микробиологическую стабильность пастеризованных мясных консервов и сокращают их реальный срок годности, что согласуется с требованиями ТР ТС 034/2013 и данными других исследований [5, 7].

Заключение. Проведённое исследование экспериментально подтвердило зависимость увеличения общего микробного числа (КМАФАнМ) от температурного режима хранения пастеризованных мясных консервов. Хранение образцов в регламентированных температурных условиях (+4 °C) в течение всего 14-суточного эксперимента вызывает минимальный рост остаточной микрофлоры (значения не превышали 3,0 log₁₀ КОЕ/г). Повышение температуры до +15 °C значительно увеличило показатель КМАФАнМ в продукте, а при +25 °C наблюдался экспоненциальное увеличение КМАФАнМ с достижением критического уровня в 7 log₁₀ КОЕ/г уже к 14-м суткам хранения консервов. Статистический анализ (однофакторный ANOVA, $p < 0,05$) подтвердил наличие статистически значимых различий в КМАФАнМ (значениях log₁₀ КОЕ/г) между всеми исследуемыми температурными режимами хранения исследуемых образцов.

Соблюдение регламентированного температурного режима (0 до +4 °C) является обязательным условием для обеспечения микробиологической стабильности и безопасности пастеризованной продукции в течение заявленного срока годности.

Расчёты на основе упрощённой линейной модели показали, что при постоянном хранении пастеризованных консервов при +4 °C теоретический срок до достижения порога их микробиологической порчи (7 log₁₀ КОЕ/г) составляет около 76 суток. Этот результат свидетельствует о значительном запасе микробиологической стабильности продукции при соблюдении рекомендованного температурного режима в течение заявленного производителем срока годности. Нарушение холодовой цепи приводит к существенному сокращению реального срока годности и создаёт риск микробиологической порчи пастеризованных мясных консервов.

При хранении при температуре +15 °C прогнозируемый срок микробиологической стабильности продукта сокращается до 23 суток, а при +25 °C - до 14 суток. Таким образом, даже кратковременные или умеренные отклонения от рекомендуемого температурного режима существенно сокращают период безопасного хранения продукции (в 3–4 раза), повышают риск микробиологической порчи и поставки потребителю небезопасной продукции. Качественный состав микрофлоры также меняется в зависимости от температуры хранения.

При низких и умеренных температурах (+4...+15 °C) доминировали психротрофные бактерии (*Brochothrix spp.*, *Pseudomonas spp.*). При повышенной температуре (+25 °C) активно развивались мезофильные микроорганизмы, дрожжи (*Candida spp.*) и плесени (*Penicillium spp.*), что сопровождалось заметными органолептическими изменениями уже на 7–10-е сутки хранения.

Результаты исследования подчёркивают необходимость строгого контроля температурного режима на всех этапах логистики и хранения. Полученные данные имеют практическое значение для обоснования требований к поддержанию непрерывной холодильной цепи, внедрению систем температурного мониторинга на всех этапах логистики и хранения пастеризованной продукции и ужесточению контроля условий хранения в торговых точках.

Список источников

1. Ветеринарно-санитарная экспертиза мясных баночных консервов: учеб.-метод. пособие для студентов по специальностям 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина», 1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза» / Д. Г. Готовский [и др.]. — Витебск: ВГАВМ, 2022. — 32 с.
2. Балымова М.В., Саматова А.А., Шлямина О.В., Макаева А.Р., Гилязова Г.Р. Сравнительный анализ качества мясных консервов «Свинина тушеная» // Ветеринарный врач. 2025. № 1. С. 25 — 30. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_1_25.
3. Hui Y. H. Handbook of Meat and Meat Processing / Y. H. Hui. — 3rd ed. — Boca Raton: CRC Press, 2022. — ISBN 978-1-138-59265-2.

4. Nychas G.-J. E., Drosinos E. H. Meat spoilage microbiota // *Current Opinion in Food Science*. — 2020. — Vol. 31. — P. 111–118.
5. Румянцева О. Н. Оценка влияния параметров холодильной цепи на сохранение качества, экологической безопасности и рациональность использования пищевых продуктов / О. Н. Румянцева // *Экономика и экологический менеджмент*. — 2009. — № 1. — С. 37–44.
6. Calhoun C. N. [и др.] Persistence of *Pseudomonas* in meat processing environments // *Food Microbiology*. — 2020. — Vol. 88. — P. 103421.
7. Frisvad J. C. [и др.] Fungal spoilage of meat // *Current Opinion in Food Science*. — 2019. — Vol. 28. — P. 41–48.
8. Саматова А. А., Шлямина О. В., Галлямова М. Ю. Микробиологический контроль качества продуктов питания животного происхождения // *Ветеринарный врач*. 2025. № 4. С. 69 — 73. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_4_69.
9. Макаревич Н. В. Оценка микробиологической стабильности мясной продукции / Н. В. Макаревич, Д. Ю. Маканова // *Вестник ветеринарной медицины*. — 2020. — N 3. — С. 45–51.
10. Госманов Р. Г. Санитарная микробиология мяса: учебник / Р. Г. Госманов. — Казань : КНИТУ, 2021. — ISBN 978-5-7882-2976-1.

References

1. Veterinary and sanitary examination of canned meat: a teaching aid for students in the specialties 1-74 03 02 "Veterinary medicine", 1-74 03 04 "Veterinary sanitation and examination" / D. G. Gotovsky [et al.]. - Vitebsk: VGAVM, 2022. - 32 p.
2. Balyмова М. В., Саматова А. А., Шлямина О. В., Макаева А. Р., Гилазова Г. Р. Comparative analysis of the quality of canned meat «Stewed pork» // *Veterinary Doctor*. 2025. No. 1. P. 25 — 30. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_1_25.
3. Hui Y. H. Handbook of Meat and Meat Processing / Y. H. Hui. - 3rd ed. - Boca Raton: CRC Press, 2022. - ISBN 978-1-138-59265-2.
4. Nychas G.-J. E., Drosinos E. H. Meat spoilage microbiota // *Current Opinion in Food Science*. — 2020. — Vol. 31. — P. 111–118.
5. Rummyantseva O. N. Assessment of the influence of cold chain parameters on the preservation of quality, environmental safety and rational use of food products / O. N. Rummyantseva // *Economics and environmental management*. — 2009. — No. 1. — P. 37–44.
6. Calhoun C. N. [et al.] Persistence of *Pseudomonas* in meat processing environments // *Food Microbiology*. — 2020. — Vol. 88. — P. 103421.
7. Frisvad J. C. [et al.] Fungal spoilage of meat // *Current Opinion in Food Science*. — 2019. — Vol. 28. — P. 41–48.
8. Samatova A. A., Shlyamina O. V., Gallyamova M. Yu. Microbiological quality control of food of animal origin // *Veterinary Doctor*. 2025. No. 4. P. 69 — 73. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_4_69.
9. Makarevich N. V. Assessment of microbiological stability of meat products / N. V. Makarevich, D. Yu. Makanova // *Bulletin of Veterinary Medicine*. — 2020. — N 3. — P. 45–51.
10. Gosmanov R. G. Sanitary microbiology of meat: textbook / R. G. Gosmanov. — Kazan: KNITU, 2021. — ISBN 978-5-7882-2976-1.

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 02.03.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 72 – 76
The Veterinarian. 2026; (2): 72 – 76

Научная статья
УДК 543.544.5:637.5
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_72

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПОЛУФАБРИКАТОВ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ

Альбина Александровна Саматова, *albinasamatova27@gmail.com*
Айсылу Завдатовна Мухарлямова, кандидат биологических наук, *muharlyamova82@mail.ru*
Оксана Викторовна Шлямина, кандидат химических наук, *shlyamina@mail.ru*
Марина Юрьевна Галлямова, *marina_rb@inbox.ru*
Анна Сергеевна Трофимова, *vnivi@vnivi.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Альбина Александровна Саматова

Аннотация. В последнее время наблюдается рост отечественного производства мяса птицы и продуктов его переработки, при этом важно не только увеличивать объемы производства, а также обеспечивать потребителей безопасной и качественной продукцией. В статье отражены результаты проведенных исследований по сравнительной оценке показателей безопасности охлажденных и замороженных полуфабрикатов – филе грудки цыплят-бройлеров, включая микробиологические исследования и анализ на остаточное количество антибиотиков. В работе применяли хроматографические (высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с диодно-матричной детекцией и хромато-масс-спектрометрия) и микробиологические методы. Исследования проведены в соответствии с нормативной документацией на данный вид продукции. Установили, что содержание антибиотиков тетрациклиновой группы (тетрацилин, хлортетрацилин, окситетрацилин, доксицилин), также левомицетина не превышало допустимых уровней ТР ТС 021/2011 как в охлажденных, так и в замороженных образцах. Микробиологическую безопасность оценивали на основании соответствия нормативным требованиям ТР ЕАЭС 051/2021. Основное различие в безопасности между двумя формами продукта обусловлено влиянием температуры на рост и выживаемость микрофлоры. Замороженные образцы демонстрируют значительно более низкие уровни КМАФАнМ по сравнению с охлажденными. Это объясняется бактериостатическим эффектом низких температур, который замедляет или останавливает рост микроорганизмов. В охлажденных продуктах микроорганизмы продолжают размножаться, что приводит к увеличению их количества со временем.

Ключевые слова: антибиотики, микробиология, цыплята-бройлеры, грудка, безопасность

Для цитирования: Саматова А. А., Мухарлямова А. З., Шлямина О. В., Галлямова М. Ю., Трофимова А. С. Сравнительная оценка показателей безопасности полуфабрикатов из мяса птицы // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 72 – 76. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_72

COMPARATIVE ASSESSMENT OF SAFETY INDICATORS OF SEMI-FINISHED POULTRY MEAT PRODUCTS

Albina A. Samatova, *albinasamatova27@gmail.com*
Aisylu Z. Mukharlyamova, candidate of biological sciences, *muharlyamova82@mail.ru*
Oksana V. Shlyamina, candidate of chemical sciences, *shlyamina@mail.ru*
Marina Yu. Gallyamova, *marina_rb@inbox.ru*
Anna S. Trofimova, *vnivi@vnivi.ru*

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

Corresponding author: Albina Alexandrovna Samatova.

Abstract. Recently, there has been an increase in domestic production of poultry meat and processed products, while it is important not only to increase production volumes, but also to provide consumers with safe and high-quality products. A comparative assessment of the safety indicators of chilled and frozen semi-finished broiler chicken breast fillets was carried out, including microbiological studies and analysis for the residual amount of antibiotics. It was found that the content of tetracycline group antibiotics (tetracycline, chlortetracycline, oxytetracycline, doxycycline), as well as levomycetin, did not exceed the permissible levels of TR CU 021/2011 in both chilled and frozen samples. Microbiological safety is assessed based on compliance with the regulatory requirements of the EAEU TR 051/2021. The main difference in safety between the two forms of the product is due to the effect of temperature on the growth and survival of microflora. Frozen samples show significantly lower levels of CMAFAnM compared to chilled ones. This is due to the bacteriostatic effect of low temperatures, which slows down or stops the growth of microorganisms. In chilled foods, microorganisms continue to multiply, which leads to an increase in their number over time.

Keywords: antibiotics, microbiology, broiler chickens, breast, safety

Введение. Птицеводство считается одним из выгодных отраслей сельского хозяйства благодаря высокой рентабельности. Птица быстро растет, требует меньше ресурсов и обеспечивает стабильный доход. Мясо птицы считается легко усваиваемым продуктом с высокой диетической ценностью весьма доступным по цене и быстрым в приготовлении, что и обуславливает его популярность на потребительском рынке.

Однако мясо и мясопродукты являются благоприятной питательной средой для развития и длительного сохранения жизнеспособности микроорганизмов [1]. В последнее время зарегистрировано большое число инфекций пищевого происхождения, в результате употребления недоброкачественной продукции, наблюдается значительное увеличение распространенности заболеваний, вызываемых микроорганизмами, загрязняющими продукты питания. На бактериальную обсемененность продуктов влияют разные факторы, такие как качество сырья, не соблюдение правил гигиены при обработке, время и температура хранения и др. [2, 3]. В связи с чем важно вовремя предотвратить загрязнение продукции и предоставить потребителям безопасный и полезный продукт.

На протяжении многих лет в птицеводстве применяют антибиотики, как для терапии и профилактики, так и в качестве стимуляторов роста, за счет воздействия на отдельные биохимические процессы, при этом последних меньше по сравнению с первыми. Наиболее востребованными являются антибиотики тетрациклиновой группы, которые обладают эффективностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий и являются более доступными по ценовой категории по сравнению с другими препаратами [4, 5]. Также одним из эффективных антибактериальных препаратов считался левомецетин.

Чрезмерное применение антибиотиков при выращивании птиц может нанести серьезный ущерб птицеводческому предприятию, так как это основная причина развития антибиотикорезистентности бактерий, что приводит к ряду проблем, среди которых сокращение количества препаратов при следующем их выборе, снижение эффективности лечения и др [6]. Так, широкое применение левомецетина привело к распространению левомецетин-резистентных микроорганизмов и, учитывая его токсическое влияние на иммунную систему и органы кроветворения, применение данного препарата было ограничено.

Бессистемное применение лекарственных препаратов, несоблюдение рекомендованных доз и нарушение схемы лечения может привести к появлению на рынке продукции, содержащей остаточные количества антибиотиков. Что отрицательно сказывается на здоровье потребителей, вызывая аллергическую реакцию (наиболее сильными аллергенами считаются антибиотики пенициллин и тилозин), токсический эффект и др. В связи с чем весьма актуальным является проведение исследований по изучению качества и безопасности сельскохозяйственной продукции, в том числе, мяса и мясопродуктов. Целью исследования была сравнительная оценка показателей безопасности полуфабрикатов из мяса цыплят-бройлеров, включая микробиологические исследования и анализ на остаточное количество антибиотиков.

Материалы и методы. Исследования проведены на базе Испытательного центра ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Определение содержания левомецетина проводили в соответствии с МУК 4.1.1912-04 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), антибиотиков тетрациклиновой группы по ГОСТ 31694-2012 с использованием tandemного масс-спектрометра высокого разрешения с электрораспылительным источником ионизации (ВЭЖХ-МС/МС). Сравнительную оценку микробиологических показателей (КМАФАнМ, патогенные микроорганизмы) для охлажденных и замороженных полуфабрикатов проводили по ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ 31659-2024 и ГОСТ

32031-2022. Объектами исследования послужили три образца охлажденных и три образца замороженных полуфабрикатов – филе грудки цыплят-бройлеров, приобретенных в торговой розничной сети г. Казани случайной выборкой.

Результаты исследований и их обсуждение. При исследовании на остаточное количество антибиотиков тетрациклиновой группы применяли хромато-масс-спектрометр высокого разрешения, который имеет высокую точность и достоверность определения массы, обладает лучшей селективностью и способностью определять несколько антибиотиков одновременно [7, 8]. Левомецетин определяли на жидкостном хроматографе с ультрафиолетовым детектором в обращенно-фазном варианте. Результаты хроматографических исследований охлажденных и замороженных полуфабрикатов филе грудки цыплят-бройлеров представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты оценки показателей безопасности полуфабрикатов из мяса птицы

Антибиотик, мг/кг	Полуфабрикат					
	Охлажденный			Замороженный		
	Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Левомецетин	Не обнаружено (менее 0,01)			Не обнаружено (менее 0,01)		
Тетрациклиновая группа: -тетрациклин -хлортетрациклин -окситетрациклин -доксидиклин	Не обнаружены (менее 0,001)			Не обнаружены (менее 0,001)		

По данным представленным в работе [9] наиболее часто обнаруживаемым антибиотиком в мясе птицы является тетрациклин. Известно, что тетрациклиновые антибиотики применяют в качестве ростостимулирующих средств, например, доказано [10], что применение окситетрациклина увеличивает прирост массы тела птицы в среднем до 10%. Левомецетин применяют при заболеваниях дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта и др. Он медленно выводится из организма и как сообщают Уланова Т.С. и соавторы (2013) в течение длительного времени может сохранять активность при хранении продукции животного происхождения.

Согласно техническому регламенту Таможенного союза, действующему на территории Российской Федерации присутствие левомецетина и антибиотиков тетрациклиновой группы включая тетрациклин, окситетрациклин, хлортетрациклин и доксициклин в мясе и мясной продукции не допускается (примечание: менее 0,0003 мг/кг для левомецетина и менее 0,01 мг/кг для тетрациклиновой группы). Согласно данным представленным в таблице искомых антибиотиков в охлажденных и замороженных образцах полуфабрикатов из мяса цыплят-бройлеров не обнаружено на уровне чувствительности применяемых ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС/МС методов. Результаты микробиологических исследований образцов филе грудки цыплят-бройлеров представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты микробиологических показателей безопасности полуфабрикатов из мяса птицы

Показатель	Допустимые уровни, не более	Охлажденный			Замороженный		
		Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 1	Образец 2	Образец 3
КМАФАнМ, КОЕ/г	$5,0 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$	$9,0 \times 10^4$	$5,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$
Патогенные, в том числе <i>Salmonella</i> в 25 г	Не допускаются	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
<i>Listeria monocytogenes</i> , в 25 г	Не допускаются	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено

Согласно полученным результатам охлажденные образцы 1 и 2 показали значения КМАФАнМ, соответствующие нормативу (не более $5,0 \times 10^5$ КОЕ/г). Образец 3 превысил нормативное значение ($5,2 \times 10^5$ КОЕ/г), что может указывать на нарушение санитарных условий производства, хранения или транспортировки, либо на приближение к концу срока годности. Все замороженные образцы показали значительно более низкие значения КМАФАнМ по сравнению с охлажденными образцами, и все они соответствовали нормативу. Это ожидаемо, поскольку процесс замораживания замедляет или полностью останавливает рост большинства микроорганизмов, хотя и не уничтожает их полностью. Низкие показатели КМАФАнМ в замороженных продуктах свидетельствуют о хорошем исходном качестве сырья и эффективном соблюдении технологии замораживания.

Во всех образцах патогенные, в том числе *Salmonella* и *Listeria monocytogenes* не обнаружены в 25 г, что является критически важным и соответствует нормативным требованиям. Это является положительным результатом и указывает на то, что производители, представленные в выборке, в целом эффективно контролируют риски, связанные с наиболее опасными пищевыми патогенами.

Заключение. Таким образом по совокупности данных результатов исследований установили, что охлажденные и замороженные полуфабрикаты из мяса цыплят-бройлеров соответствуют требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» и ТР ЕАЭС 051/2021 «О безопасности мяса птицы и продукции его переработки».

На уровне чувствительности применяемых ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС/МС методов антибиотиков в охлажденных и замороженных образцах полуфабрикатов из мяса цыплят-бройлеров не обнаружено. Результаты микробиологических исследований позволяют сделать вывод о необходимости и важности соблюдения температурных режимов при хранении полуфабрикатов из птицы. Строгое соблюдение температурных режимов позволяет предотвратить размножение бактерий, сохранить структуру, пищевую ценность, гарантирует соблюдение сроков годности и безопасность полуфабрикатов из мяса птицы для потребителя.

Список источников

1. Саматова А. А. Микробиологический контроль качества продуктов питания животного происхождения / А. А. Саматова, О. В. Шлямина, М. Ю. Галлямова // Ветеринарный врач. – 2025. – № 4. – С. 69-73.
2. Курсеитова Э. Э. Загрязнение продуктов питания контаминантами микробного происхождения: современные вызовы / Э. Э. Курсеитова // Человек-Природа-Общество: теория и практика безопасности жизнедеятельности, экологии и валеологии. – 2019. – №5 (12). – С.34–39.
3. Саматова А. А. Оценка качества мяса говядины микробиологическим и хромато-масс-спектрометрическими методами / А. А. Саматова, О. В. Шлямина, А. З. Мухарлямова // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т. 74, № 4. – С. 127-132.
4. Wasch K. Detection of residues of tetracycline antibiotics in pork and chicken meat: correlation between results of screening and confirmatory tests / K. Wasch, L. Okerman, H. Brabander // Analyst. – 1998. – Vol.123. – P. 2737-2741.
5. Оценка долгосрочной стабильности антибиотиков тетрациклиновой группы хромато-масс-спектрометрическим методом / А. З. Мухарлямова, Д. Н. Мингалеев, А. М. Сайфутдинов, О. В. Шлямина // Ветеринарный врач. – 2023. – № 5. – С. 15-20.
6. Сулайманова Г.В. Контаминация антибиотиками животноводческой и птицеводческой продукции / Г. В. Сулайманова, Н. В. Донкова // Вестник КрасГАУ. – 2020. – № 6(159). – С. 188-193.
7. A review of analytical procedures for the simultaneous determination of medically important veterinary antibiotics in environmental water: sample preparation, liquid chromatography, and mass spectrometry / C. Kim, H. D. Ryu, E. G. Chung [et. all] // Journal of Environmental Management. – 2018. - Vol. 217. - P. 629–645.
8. Методы анализа антибиотиков в пищевой продукции / А. А. Саматова, О. В. Шлямина, А. З. Мухарлямова [и др.] // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства : Материалы международной научно-практической конференции, Йошкар-Ола, 20–21 марта 2025 года. – Йошкар-Ола: Марийский государственный университет, 2025. – С. 651-654.
9. Анализ содержания антибиотиков тетрациклиновой группы в мясе цесарок / А. А. Соловьева, И. Н. Трегубова, А. И. Грудев [и др.] // Ветеринарная патология. – 2020. – № 4(74). – С. 37-42.

10. The effect of oxytetracycline on growth and lipid metabolism in poultry / Sania A. I. Shaddad, I. A. Wasfi, M. A. Maglad, S. E. I. Adam // *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*. – 1985. – Vol. 80, (2). – P. 375-380.
11. Разработка методики определения хлорамфеникола в мясных продуктах / Т. С. Уланова, Т. Д. Карнажицкая, Е. О. Пшеничникова, Э. А. Нахиева // *Анализ риска здоровью*. – 2013. – №4. – С. 82-90.

References

1. Samatova A. A. Microbiological quality control of food products of animal origin // A. A. Samatova, O. V. Shlyamina, M. YU. Gallyamova // *Veterinarian*. – 2025. – No. 4. – P. 69-73.
2. Kurtseitova E. E. Food microbial contamination: modern challenges / E. E. Kurtseitova // *Man-Nature-Society: Theory and Practice of Life Safety, Ecology, and Valeology*. – 2019. – No. 5. – P. 34–39.
3. Samatova A. A. Evaluation of beef meat quality by microbiological and chromato-mass spectrometric methods / A. A. Samatova, O. V. Shlyamina, A. Z. Mukharlyamova // *Butlerov Communications C*. – 2023. – No. 74 (4). – P. 127-132.
4. Wasch K. Detection of residues of tetracycline antibiotics in pork and chicken meat: correlation between results of screening and confirmatory tests / K. Wasch, L. Okerman, H. Brabander // *Analyst*. – 1998. – Vol.123. – P. 2737-2741.
5. Assessment of long-term stability of tetracycline group antibiotics by chromatography-mass spectrometric method / A. Z. Mukharlyamova, D. N. Mingaleev, A. M. Saifutdinov, O. V. Shlyamina // *Veterinari-an*. – 2023. – No. 5. – P. 15-20.
6. Sulaimanova G. V. Contamination of Livestock and Poultry Products with Antibiotics / G. V. Sulaimanova, N. V. Donkova // *Vestnik KrasGAU*. – 2020. – No. 6 (159). – P. 188-193.
7. A review of analytical procedures for the simultaneous determination of medically important veterinary antibiotics in environmental water: sample preparation, liquid chromatography, and mass spectrometry / C. Kim, H. D. Ryu, E. G. Chung [et al.] // *Journal of Environmental Management*. – 2018. - Vol. 217. - P. 629–645.
8. Methods of Antibiotics Analysis in Food Products / A. A. Samatova, O. V. Shlyamina, A. Z. Mukharlyamova [et al.] // *Current Issues in Improving the Technology of Agricultural Production and Processing: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Yoshkar-Ola, March 20-21, 2025*. – Yoshkar-Ola: Mari State University, 2025. – P. 651-654.
9. Analysis of the content of tetracycline group antibiotics in guinea fowl meat / A. A. Solovieva, I. N. Tregubova, A. I. Grudev [et al.] // *Veterinary pathology*. – 2020. – No. 4 (74). – P. 37-42.
10. The effect of oxytetracycline on growth and lipid metabolism in poultry / Sania A. I. Shaddad, I. A. Wasfi, M. A. Maglad, S. E. I. Adam // *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*. – 1985. – Vol. 80, (2). – P. 375-380.
11. Development of a method for determining chloramphenicol in meat products / T. S. Ulanova, T. D. Karnazhitskaya, Ye. O. Pshenichnikova, E. A. Nakhieva // *Health Risk Analysis*. – 2013. – No. 4. – P. 82-90.

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 11.03.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 77 – 84
The Veterinarian. 2026; (2): 77 – 84

Научная статья

УДК 57.083.3/57.088.3

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_77

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНЫХ АНАЛОГОВ КАПСИДНОГО БЕЛКА ЦИРКОВИРУСА СВИНЕЙ 2-ГО ТИПА

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

Алсу Рузалевна Ахунова¹, *aahunova@inbox.ru*

Юлия Александровна Кузнецова¹, *yulia.nikolaeva111@mail.ru*

Рафаил Мазитович Ахмадеев¹, кандидат ветеринарных наук

Ильнур Иршатович Самерханов¹, кандидат биологических наук

Замиля Загитовна Алеева¹

Гельфия Минзагитовна Яруллина¹

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

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

Автор, ответственный за переписку: Антонина Глебовна Галеева.

Аннотация. Цирковиральная инфекция свиней, индуцированная цирковиром 2-го типа (ЦВС-2), наносит значительный экономический ущерб отрасли, что стимулирует поиск новых, безопасных средств профилактики взамен традиционных инактивированных препаратов. Целью настоящего исследования стала сравнительная иммунобиологическая характеристика рекомбинантных аналогов капсидного белка (Сар) ЦВС-2, полученных с использованием двух принципиально разных платформ: прокариотической (*Escherichia coli*) и эукариотической (клетки CHO-K1). В ходе доклинических испытаний на лабораторных животных (кроликах) оценивались параметры безопасности, реактогенности и динамика антителообразования. Установлено, что, хотя оба антигена обладают высокой специфичностью, эукариотический аналог демонстрирует превосходство по критерию напряженности поствакцинального иммунитета. Ключевым результатом работы стало подтверждение длительности иммунного ответа: мониторинг динамики сывороточных антител показал, что оба иммуногена обеспечивают их циркуляцию на высоком уровне в течение не менее 6 мес после иммунизации. На основании полученных данных обоснована стратегия дифференцированного применения белков. Антиген Сар-СНО благодаря нативной конформации и высокой иммуногенности выбран в качестве основы для разработки новой субъединичной вакцины против ЦВИС, а более экономичный в производстве антиген Сар-Есо рекомендован для конструирования диагностических тест-систем, необходимых для массового серологического скрининга поголовья.

Ключевые слова: цирковир свиней 2-го типа, капсидный белок, прокариотическая экспрессия, эукариотическая экспрессия, гуморальный иммунитет

Для цитирования: Галеева А. Г., Ахунова А. Р., Кузнецова Ю. А., Ахмадеев Р. М., Самерханов И. И., Алеева З. З., Яруллина Г. М. Иммунобиологическая характеристика рекомбинантных аналогов капсидного белка цирковируса свиней 2-го типа // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 77 – 84. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_77

IMMUNOBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RECOMBINANT ANALOGUES OF PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 CAPSID PROTEIN

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

Alsu R. Akhunova¹, *aahunova@inbox.ru*

Julia A. Kuznetsov¹, *yulia.nikolaeva111@mail.ru*

Rafail M. Akhmadeev¹, Candidate of Veterinary Sciences

Ilnur I. Samerkhanov¹, Candidate of Biological Sciences
 Zamilya Z. Aleeva¹
 Gelfirya M. Yarullina¹

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

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

Corresponding author: Antonina Glebovna Galeeva.

Abstract. Porcine circovirus infection induced by type 2 circovirus (PCV2) causes significant economic damage to the industry, which stimulates the search for new, safe means of prevention instead of traditional inactivated drugs. The aim of this study was to compare the immunobiological characteristics of recombinant capsid protein (Cap) analogues of PCV2, obtained using two fundamentally different platforms: prokaryotic (*Escherichia coli*) and eukaryotic (CHO-K1 cells). During preclinical tests on laboratory animals (rabbits), safety parameters, reactogenicity, and antibody formation dynamics were evaluated. It has been established that, although both antigens have high specificity, the eukaryotic analog demonstrates superiority in terms of the intensity of post-vaccination immunity. The key result of the work was the confirmation of the duration of the immune response: monitoring of the dynamics of serum antibodies showed that both immunogens ensure their circulation at a high level for at least 6 months after immunization. Based on the data obtained, a strategy for the differentiated use of proteins is substantiated. Due to its native conformation and high immunogenicity, the Cap-CHO antigen was chosen as the basis for the development of a new subunit vaccine against PCV2, and the Cap-Eco antigen, which is more economical in production, is recommended for the design of diagnostic test systems necessary for mass serological screening of livestock.

Keywords: porcine circovirus type 2, capsid protein, prokaryotic expression, eukaryotic expression, humoral immunity

Введение. Цирковир свиней 2-го типа (ЦВС-2, PCV2) на сегодняшний день остается одним из наиболее экономически значимых патогенов в мировом свиноводстве. Являясь этиологическим агентом целого ряда патологических состояний, объединяемых термином «цирковирус-ассоциированные болезни» (PCVAD), ЦВС-2 вызывает задержку роста, респираторные нарушения, репродуктивные патологии и синдром мультисистемного послеотъемного истощения (PMWS) [1]. Высокая контагиозность, устойчивость вируса во внешней среде и способность подавлять иммунную систему организма-хозяина приводят к колоссальным убыткам индустрии, связанным как с падежом поголовья, так и со снижением эффективности откорма [2, 3].

Единственным эффективным инструментом контроля распространения ЦВС-2 является специфическая профилактика. Традиционные инактивированные вакцины, несмотря на свою эффективность, обладают рядом недостатков, включая высокую стоимость производства, необходимость работы с живым патогеном и риск неполной инактивации [4]. В связи с этим вектор развития современной ветеринарной биотехнологии смещается в сторону разработки рекомбинантных субъединичных вакцин. Такие препараты, основанные на очищенных аналогах вирусных антигенов, сочетают в себе высокую безопасность и стабильность, при этом способны индуцировать мощный протективный иммунитет [5].

Ключевым иммуногеном ЦВС-2 является капсидный белок (Cap), кодируемый открытой рамкой считывания *ORF2* [6]. Именно этот белок формирует вирусный капсид и содержит основные эпитопы, распознаваемые нейтрализующими антителами. Эффективность субъединичной вакцины напрямую зависит от корректной конформации и чистоты получаемого антигена, что, в свою очередь, определяется выбором системы экспрессии. Наиболее распространенными платформами для получения рекомбинантных белков являются прокариотические (на основе *Escherichia coli*) [7-9] и эукариотические (клетки млекопитающих и насекомых) [10-12] системы. Система *E. coli* привлекательна благодаря высокой продуктивности, низкой стоимости культивирования и простоте масштабирования процесса. Однако отсутствие посттрансляционных модификаций (ПТМ) и риск образования телец включения (ТВ) могут влиять на иммуногенные свойства целевого белка. Альтернативой выступают эукариотические системы, в частности, клетки яичников китайского хомячка (СНО). Клетки млекопитающих способны осуществлять сложный фолдинг и гликозилирование белков, что позволяет получать антигены, максимально приближенные по структуре к нативному вирусному белку, потенциально повышая их иммуногенность.

Сравнительный анализ иммунобиологических свойств капсидного белка ЦВС-2, полученного в принципиально разных системах экспрессии, представляет значительный научный и практический интерес для оптимизации стратегии вакцинации. Перед проведением испытаний на целевых животных (свиньях) критически важным этапом является доклиническая оценка кандидатов на лабораторных животных. Кролики представляют собой оптимальную модель для первичного скрининга вакцинных препаратов благодаря своей высокой чувствительности к иммуногенам, поэтому использование данной модели позволяет надежно оценить профиль безопасности, реактогенность и динамику развития гуморального иммунного ответа, минимизируя этические и экономические риски.

Целью настоящего исследования явилась иммунобиологическая характеристика и сравнительная оценка рекомбинантных аналогов капсидного белка ЦВС-2, синтезированных в прокариотической системе *E. coli* и в эукариотической системе клеток CHO-K1, для определения наиболее перспективного кандидата для создания вакцины.

Материалы и методы. *Генетические конструкции и штаммы.* В работе использовали консенсусную нуклеотидную последовательность, кодирующую капсидный белок ЦВС-2 – *ORF2* актуального генотипа 2d. Синтез гена осуществляли на аутсорсе (ЗАО «Евроген», Россия) в двух вариантах кодонной оптимизации (под организм *E. coli* и под организм *Cricetulus griseus*). Для конструирования прокариотической системы ген *ORF2* был клонирован в вектор pET-22b(+) («Novagen», Германия) по сайтам рестрикции *NcoI/XhoI*; рекомбинантной плазмидой были трансформированы химически компетентные клетки штамма *E. coli* BL21(DE3)pLysS (генотип F[–], ompT, hsdSB (rB[–], mB[–]), dcm, gal, λ(DE3), pLysS, (Cmr)) методом теплового шока. Для конструирования эукариотической системы экспрессии ген *ORF2*, фланкированный с 5'-конца консенсусной последовательностью Козак, клонировали в вектор pcDNA_3.1(+) («Thermo Fisher», США) по сайтам рестрикции *BamHI/XhoI*. Для транзientной трансфекции использовали монослойную клеточную линию CHO-K1 («БиолоТ», Россия).

Получение и очистка рекомбинантного белка прокариотического происхождения. Клетки штамма-продуцента *E. coli* BL21(DE3)pLysS/pET-22b(+)-*ORF2* культивировали при 37 °C и покачивании (180 rpm) в селективной среде LB с добавлением 200 мкг/мл ампициллина и 3 % глюкозы до оптической плотности ОП₆₀₀ 0,7 ОЕ. Индукцию экспрессии проводили добавлением ИПТГ до конечной концентрации 0,5 mM и культивировали в течение 5 ч в аналогичных условиях. Клетки осаждали низкоскоростным центрифугированием (20 мин, 4000 g, 4 °C). Поскольку целевой белок накапливался преимущественно в виде ТВ, для его очистки был применен протокол металл-хелатной аффинной хроматографии, описанной в предыдущей работе авторов [13, 17].

Транзientная трансфекция клеточной линии CHO-K1. Клетки культивировали в питательной среде DMEM-F12 («БиолоТ», Россия) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки («HyClone», Австралия), 100 mM пенициллина-стрептомицина («Панэко», Россия), 10 mM L-глутамина («Панэко», Россия) при 37 °C и 70 % влажности в атмосфере 5 % CO₂. Катионную трансфекцию плазмидой pcDNA_3.1(+)-*ORF2* проводили с использованием реагента «PEI 40K» («Servicebio», Китай) согласно инструкции производителя. Сбор культуральной жидкости и клеточной массы осуществляли через 72 ч после трансфекции. Очистку белка, экспрессируемого преимущественно экстрацеллюлярно, проводили согласно протоколу, описанному в предыдущей работе авторов [15].

Характеристика полученных антигенов. Концентрацию белка определяли спектрофотометрически на приборе «UV Nano» («Allsheng», Китай). Чистоту и молекулярную массу подтверждали методом электрофореза в 15 % полиакриламидном геле (SDS-PAGE) с последующим окрашиванием Кумасси. Специфичность белков подтверждали методом вестерн-блоттинга с использованием специфических антисывороток свиней к ЦВС-2 (ФКП «Щелковский биокомбинат»).

Дизайн экспериментов in vivo. Исследования проводили на взрослых кроликах породы советская шиншилла обоего пола, живой массой 2,5-3 кг, полученных из питомника ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Животных содержали в стандартных условиях «чистой» зоны вивария со свободным доступом к воде и корму. Все манипуляции проводили в соответствии с принципами биоэтики согласно Директиве ЕС 2010/63/EU и ГОСТ 33215-2014.

Животные были рандомизированы на 3 группы (n = 12): группа № 1 получала капсидный белок ЦВС-2 прокариотического происхождения (Сар-Есо) в дозе 100 мкг; группа № 2 получала капсидный белок ЦВС-2 эукариотического происхождения (Сар-СНО) в дозе 100 мкг; группе № 3 (контроль) вводили стерильный фосфатно-солевой буфер (ФСБ). В качестве адъюванта использовали масляный адъювант «Montanide ISA 201» («Seppic», Франция) в соотношении 1:1 с антигеном, на основе которого изготавливали эмульсии типа «вода в масле». Экспериментальные образцы вакцин вводили двукратно с интервалом 21 день в заднебедренную группу мышц.

Наблюдение за клиническим состоянием животных проводили ежедневно в течение всего эксперимента. Общую безопасность препаратов оценивали по поведению, аппетиту и динамике массы тела (взвешивание проводили еженедельно). Для оценки реактогенности оценивали местные реакции в точке введения (наличие отека, гиперемии, инфильтрата) через 24, 48, 72 ч после каждой иммунизации. Ректальную термометрию проводили до введения и в течение 7 сут после каждой иммунизации. Взятие крови для получения сыворотки проводили из краевой ушной вены в дни 0, 14, 28, 42 после иммунизации. Титр специфических антител к ЦВС-2 определяли методом непрямого иммуноферментного анализа (НИФА) при помощи набора, разработанного в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» на основе универсального диагностического рекомбинантного антигена [16].

Результаты исследований и их обсуждение. *Экспрессия, очистка и характеристика рекомбинантных белков.* На первом этапе работы была проведена сравнительная оценка эффективности наработки рекомбинантного капсидного белка ЦВС-2 в прокариотической и эукариотической системах. Трансформация клеток *E. coli* плазмидным вектором, несущим модифицированный ген *ORF2*, и последующая индукция ИПТГ привели к высокому уровню экспрессии целевого белка (40–45 мг на 1 л бактериальной культуры). Электрофоретический анализ клеточных лизатов продемонстрировал наличие мажорной полипептидной фракции молекулярной массой 26 кДа, что соответствует расчетной массе капсидного белка (с учетом удаленного NLS-домена). Анализ растворимости показал, что более 70 % белка накапливалось в виде ТВ. После проведения процедуры очистки методом аффинной хроматографии с последующим рефолдингом ТВ была достигнута чистота препарата не менее 90 % по данным денситометрии. Выход очищенного белка составил 30–32 мг с 1 л культуры.

Трансфекция клеток CHO-K1 вектором pcDNA_3.1(+)/ORF2 обеспечила синтез рекомбинантного белка, претерпевшего ПТМ, характерные для клеток млекопитающих. На электрофореграмме очищенный препарат белка (Сар-СНО) визуализировался в виде полосы молекулярной массой около 30 кДа. Различие в электрофоретической подвижности по сравнению с прокариотическим аналогом может свидетельствовать о наличии гликозилирования или других модификаций. Выход белка в данной системе был несколько ниже по сравнению с бактериальной и составил до 25 мг/л, однако белок характеризовался высокой растворимостью без необходимости проведения рефолдинга.

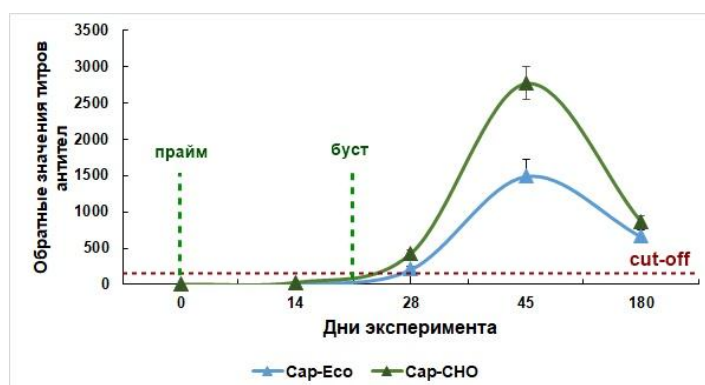
Специфичность обоих рекомбинантных антигенов была подтверждена методом иммуноблоттинга: оба препарата специфически реагировали с антисывороткой к ЦВС-2, образуя четкие полосы в соответствующей зоне молекулярных масс, что свидетельствует о сохранении антигенных детерминант в процессе синтеза и очистки в обеих системах.

Оценка безопасности и реактогенности рекомбинантных антигенов на лабораторной модели. Испытания *in vivo* на кроликах позволили оценить профиль безопасности полученных вакцинных кандидатов. В течение всего периода наблюдения основного эксперимента (42 сут) ни в одной из опытных групп не было зарегистрировано случаев падежа или признаков общего угнетения. Животные сохраняли нормальный аппетит и поведенческую активность. Термометрия не выявила статистически значимого повышения ректальной температуры после введения препаратов в обеих опытных группах в течение 3 сут после прайм- и буст-иммунизации. Статистически значимых отличий в средней массе тела между опытными группами (иммунизированными Сар-Есо и Сар-СНО) и контрольной группой (ФСБ) выявлено не было ($p < 0,05$). Это указывает на отсутствие токсического влияния препаратов на организм животных в выбранных дозировках.

Местные реакции на введение обоих образцов отсутствовали либо были минимальны (незначительная гиперемия и локализованный отек диаметром до 0,5 см, самопроизвольно купировавшиеся в течение 48 ч), что свидетельствует о высокой чистоте обоих препаратов и удовлетворительной биосовместимости.

Иммуногенность и динамика антителообразования. Ключевым этапом исследования стала сравнительная оценка гуморального иммунного ответа. До начала эксперимента все животные были серонегативны к ЦВС-2, однако на 14-й день (до бустерной иммунизации) в обеих группах регистрировалась сероконверсия, при этом уровень специфических антител в группе Сар-СНО был выше, чем в группе Сар-Есо ($p < 0,01$). На 28 сут после иммунизации титры антител в обеих группах значительно возросли: среднее значение в группе Сар-Есо составило $(213,3 \pm 42,6)$, в группе Сар-СНО – $(426,7 \pm 65,2)$. К 42–45 дню эксперимента титры антител достигли максимальных значений. Важно отметить, что эукариотический аналог капсидного белка индуцировал образование антител в среднем титре 1:2773, что статистически достоверно ($p < 0,05$) превышало показатели группы Сар-Есо (1:1493). Оба экспериментальных образца обеспечивали формирование иммунитета, сохранявшегося в течение не менее 6 мес (рисунок 1).

Рисунок 1 – Динамика антителогенеза при иммунизации кроликов рекомбинантными аналогами капсидного белка ЦВС-2



Комплексная сравнительная характеристика рекомбинантных аналогов капсидного белка ЦВС-2 представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика рекомбинантных антигенов ЦВС-2, полученных в прокариотической и эукариотической системах экспрессии

Критерий сравнения	Cap-Eco	Cap-SHO
<i>Биотехнологические и производственные параметры</i>		
Длительность цикла культивирования	Короткая (12-24 ч)	Длительная (3-5 сут)
Сложность питательных сред	Низкая (LB, SOB), дешевые компоненты	Высокая (специализированные среды, сыворотка, добавки), высокая стоимость
Уровень экспрессии (выход белка)	Высокий (при условии оптимизации – до 100 мг/л)	Средний или низкий (10-50 мг/л)
Локализация белка	Преимущественно внутриклеточная (часто в виде ТВ)	Внутриклеточная (цитозоль) либо внешняя (секреция в культуральную среду)
Трудоемкость очистки	Высокая (требуется лизис клеток, отмывка ТВ, рефолдинг)	Средняя (осветление культуральной жидкости, хроматография)
Масштабируемость технологии	Высокая (легкий переход к биореакторам большого объема)	Высокая, но требует сложного оборудования (CO ₂ -инкубаторы, air-lift реакторы)
Себестоимость дозы антигена	Низкая	Высокая
<i>Физико-химические свойства субстанции</i>		
Посттрансляционные модификации	Отсутствуют	Присутствуют (гликозилирование, фосфорилирование)
Конформационная структура (фолдинг)	Требуется искусственного фолдинга, возможны ошибки	Нативный фолдинг, обеспечиваемый клетками млекопитающего
Растворимость очищенного белка	Зависит от буфера, склонен к агрегации при хранении	Высокая, стабилен в физиологических растворах
Наличие примесей	Риск наличия бактериальных эндотоксинов (LPS)	Низкое содержание примесей
Антигенная специфичность	Высокая, но возможна перекрестная реактивность с белками <i>E. coli</i>	Высокая

Продолжение Таблицы 1

<i>Иммунобиологические характеристики</i>		
Общая безопасность	Безопасен, не вызывает гибели или истощения	
Реактогенность (местная реакция)	Низкая (реакция минимальная или отсутствует)	
Пирогенность	Температурная реакция в пределах физиологической нормы	
Скорость сероконверсии	Стандартная (антитела появляются в среднем к 14 дню эксперимента)	
Иммуногенность (титр антител в ИФА)	Высокая, но зависит от качества рефолдинга	Высокая, выше прокариотического аналога
Специфичность антител (качественный состав)	Преимущественно к линейным эпитопам	К линейным и конформационным эпитопам
Совместимость с адьювантом	Высокая совместимость, но может требовать более жестких условий эмульгирования	Высокая совместимость

Несмотря на то, что оба рекомбинантных белка проявили выраженные иммуногенные свойства, эукариотический аналог продемонстрировал преимущество, что, вероятно, обусловлено правильным фолдингом белка в клетках млекопитающих: это обеспечивает лучшую презентацию конформационных эпитопов иммунной системе, в отличие от прокариотического аналога, который мог частично агрегировать или иметь нарушения третичной структуры после рефолдинга.

Заключение. В ходе настоящего исследования были получены и охарактеризованы два рекомбинантных аналога капсидного белка ЦВС-2 прокариотического и эукариотического происхождения. Сравнительный анализ полученных антигенов продемонстрировал существенное влияние выбора системы экспрессии как на физико-химические свойства целевого продукта, так и на его иммунобиологический профиль.

Оба полученных рекомбинантных белка проявили высокую специфичность и способность к индукции гуморального иммунного ответа на модели лабораторных животных (кроликах), что подтверждает сохранность ключевых антигенных детерминант. Антиген, полученный в системе *E. coli*, отличался высоким выходом и низкой себестоимостью производства, однако требовал проведения сложных процедур рефолдинга. Антиген, экспрессированный в клетках СНО-K1, характеризовался способностью к формированию более напряженного иммунитета, вероятно, за счет наличия ПТМ и нативной конформации, максимально приближенной к структуре вириона ЦВС-2. Основываясь на полученных данных, нами была определена стратегия дальнейшего использования антигенов:

1. Рекомбинантный белок Сар-СНО, обладающий оптимальным балансом иммуногенности и безопасности, выбран в качестве основного кандидата для разработки субъединичной вакцины против ЦВИС. Дальнейшие исследования будут направлены на подбор оптимальной адьювантной формуляции и проведение испытаний протективной эффективности на целевых животных (свиньях).

2. Рекомбинантный белок Сар-Есо благодаря технологичности синтеза и высокой продуктивности штамма, рекомендован для использования в качестве диагностических тест-систем (ИФА, ИХА) для массового серологического мониторинга поголовья.

Финансирование исследования. Работа выполнена в соответствии с государственным заданием ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» на 2025-2026 гг. по теме: 4.2.5 «Разработка технологических подходов к производству современных вакцин против вирусных и бактериальных инфекций животных».

Список источников

1. Porcine circovirus diseases: a review of PMWS / Baekbo P., Kristensen C.S., Larsen L.E. // Transbound Emerg Dis. – 2012. – Vol. 59. – P. 60-7. DOI: 10.1111/j.1865-1682.2011.01288.x.
2. Cost of post-weaning multi-systemic wasting syndrome and porcine circovirus type-2 subclinical infection in England - an economic disease model / Alarcon P., Rushton J., Wieland B. // Prev Vet Med. 2013. – Vol.110(2). – P. 88-102. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2013.02.010.
3. Environmental distribution of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) in swine herds with natural infection / López-Lorenzo G., Díaz-Cao J.M., Prieto A. et al. // Sci Rep. – 2019. – Vol. 9(1). – P. 14816. DOI: 10.1038/s41598-019-51473-6.

4. Porcine Circovirus Type 2 Vaccines: Commercial Application and Research Advances / Guo J., Hou L., Zhou J. et al. // *Viruses*. – 2022. – Vol. 14. – P. 2005. DOI: 10.3390/v14092005.
5. Karuppannan A.K., Opriessnig T. Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccines in the Context of Current Molecular Epidemiology // *Viruses*. – 2017. – Vol. 9(5). – P. 99. DOI: 10.3390/v9050099.
6. Cheung A.K. Transcriptional analysis of porcine circovirus type 2 // *Virology*. – 2003. – Vol. 305. – P. 168–180. DOI: 10.1006/viro.2002.1733.
7. Production of *Escherichia coli*-based virus-like particle vaccine against porcine circovirus type 2 challenge in piglets: Structure characterization and protective efficacy validation / Xi X., Mo X., Xiao Y. et al. // *J Biotechnol*. – 2016. – Vol. 223. – P. 8-12. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.02.025.
8. Efficient expression and purification of porcine circovirus type 2 virus-like particles in *Escherichia coli* / Wu P.C., Chen T.Y., Chi J.N. et al. // *J Biotechnol*. – 2016. – Vol. 220. – P. 78-85. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.01.017.
9. Optimized production of full-length PCV2d virus-like particles in *Escherichia coli*: A cost-effective and high-yield approach for potential vaccine antigen development / Zhang C., He F., Li N. et al. // *Microb Pathog*. – 2024. – Vol. 190. – P. 106630. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106630.
10. Efficient application of a baculovirus-silkworm larvae expression system for obtaining porcine circovirus type 2 virus-like particles for a vaccine / He Q., Cao Z., Wang P. et al. // *Arch Virol*. – 2020. – Vol. 165(10). – P. 2301-2309. DOI: 10.1007/s00705-020-04754-9.
11. Comparison of Immune Responses to the PCV2 Replicase-Capsid and Capsid Virus-Like Particle Vaccines in Mice / Jung B.K., Kim H.R., Lee Y.H. et al. // *J Microbiol Biotechnol*. – 2019. – Vol. 29(3). – P. 482-488. DOI: 10.4014/jmb.1809.09032.
12. Получение поликлональных антител к основному капсидному белку цирковируса свиней второго типа и их потенциальное применение / И. А. Емельянов, И. Ю. Волков, М. И. Егоренкова и др. // *Ветеринарный врач*. – 2024. – № 5. – С. 35-46. – DOI 10.33632/1998-698X_2024_5_35.
13. Гетерологичная экспрессия рекомбинантных антигенов вируса классической чумы свиней и цирковируса свиней 2-го типа / А. Г. Галеева, А. Р. Ахунова, Н. И. Хаммадов и др. // *Ветеринария*. – 2024. – № 10. – С. 25-31. – DOI 10.30896/0042-4846.2024.27.10.25-31.
14. Рекомбинантный нуклеопротеин вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней для серологической диагностики / Ю. А. Николаева, А. Г. Галеева, А. Р. Ахунова [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2025. – № 2. – С. 85-93. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_2_85.
15. Транзientная экспрессия гена гликопротеина E2 вируса классической чумы свиней на модели клеток HEK293 / А. Г. Галеева, А. Р. Ахунова, Ю. А. Кузнецова [и др.] // *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. – 2025. – № 6. – С. 168-174.
16. Разработка непрямого иммуоферментного теста на основе рекомбинантного капсидного белка для определения антител к цирковирусу свиней 2-го типа / А. Р. Ахунова, А. Г. Галеева, Н. И. Хаммадов [и др.] // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2025. – Т. 2, № 4. – С. 79-88. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202504208.

References

1. Porcine circovirus diseases: a review of PMWS / Baekbo P., Kristensen C.S., Larsen L.E. // *Transbound Emerg Dis*. – 2012. – Vol. 59. – P. 60-7. DOI: 10.1111/j.1865-1682.2011.01288.x.
2. Cost of post-weaning multi-systemic wasting syndrome and porcine circovirus type-2 subclinical infection in England - an economic disease model / Alarcon P., Rushton J., Wieland B. // *Prev Vet Med*. 2013. – Vol.110(2). – P. 88-102. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2013.02.010.
3. Environmental distribution of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) in swine herds with natural infection / López-Lorenzo G., Díaz-Cao J.M., Prieto A. et al. // *Sci Rep*. – 2019. – Vol. 9(1). – P. 14816. DOI: 10.1038/s41598-019-51473-6.
4. Porcine Circovirus Type 2 Vaccines: Commercial Application and Research Advances / Guo J., Hou L., Zhou J. et al. // *Viruses*. – 2022. – Vol. 14. – P. 2005. DOI: 10.3390/v14092005.
5. Karuppannan A.K., Opriessnig T. Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccines in the Context of Current Molecular Epidemiology // *Viruses*. – 2017. – Vol. 9(5). – P. 99. DOI: 10.3390/v9050099.
6. Cheung A.K. Transcriptional analysis of porcine circovirus type 2 // *Virology*. – 2003. – Vol. 305. – P. 168–180. DOI: 10.1006/viro.2002.1733.
7. Production of *Escherichia coli*-based virus-like particle vaccine against porcine circovirus type 2 challenge in piglets: Structure characterization and protective efficacy validation / Xi X., Mo X., Xiao Y. et al. // *J Biotechnol*. – 2016. – Vol. 223. – P. 8-12. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.02.025.

8. Efficient expression and purification of porcine circovirus type 2 virus-like particles in *Escherichia coli* / Wu P.C., Chen T.Y., Chi J.N. et al. // J Biotechnol. – 2016. – Vol. 220. – P. 78-85. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.01.017.
9. Optimized production of full-length PCV2d virus-like particles in *Escherichia coli*: A cost-effective and high-yield approach for potential vaccine antigen development / Zhang C., He F., Li N. et al. // Microb Pathog. – 2024. – Vol. 190. – P. 106630. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106630.
10. Efficient application of a baculovirus-silkworm larvae expression system for obtaining porcine circovirus type 2 virus-like particles for a vaccine / He Q., Cao Z., Wang P. et al. // Arch Virol. – 2020. – Vol. 165(10). – P. 2301-2309. DOI: 10.1007/s00705-020-04754-9.
11. Comparison of Immune Responses to the PCV2 Replicase-Capsid and Capsid Virus-Like Particle Vaccines in Mice / Jung B.K., Kim H.R., Lee Y.H. et al. // J Microbiol Biotechnol. – 2019. – Vol. 29(3). – P. 482-488. DOI: 10.4014/jmb.1809.09032.
12. Preparation of polyclonal antibodies to the main capsid protein of the second type of porcine circovirus and their potential use / I. A. Yemelyanov, I. Y. Volkov, M. I. Egorenkova et al. // Veterinarian. – 2024. – No. 5. – pp. 35-46. – DOI 10.33632/1998-698X_2024_5_35.
13. Heterologous expression of recombinant antigens of classical swine fever virus and type 2 porcine circovirus / A. G. Galeeva, A. R. Akhunova, N. I. Hammadov et al. // Veterinary Medicine. – 2024. – No. 10. – pp. 25-31. – DOI 10.30896/0042-4846.2024.27.10.25-31.
14. Recombinant nucleoprotein of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus for serological diagnosis / Yu.A. Nikolaeva, A. G. Galeeva, A. R. Akhunova [et al.] // Veterinarian. – 2025. – No. 2. – pp. 85-93. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_2_85.
15. Transient expression of the glycoprotein E2 gene of classical swine fever virus on a model of HEK293 cells / A. G. Galeeva, A. R. Akhunova, Yu.A. Kuznetsova [et al.] // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. – 2025. – № 6. – pp. 168-174.
16. Development of an indirect enzyme immunoassay based on recombinant capsid protein for the determination of antibodies to pig circovirus type 2 / A. R. Akhunova, A. G. Galeeva, N. I. Hammadov [et al.] // Veterinary medicine, animal science and biotechnology. – 2025. – Vol. 2, No. 4. – pp. 79-88. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202504208.

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 09.02.2026;

© Галеева А. Г., Ахунова А. Р., Кузнецова Ю. А., Ахмадеев Р. М., Самерханов И. И., Алеева З. З., Яруллина Г. М. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 85 – 91
The Veterinarian. 2026; (2): 85 – 91

Научная статья
УДК 619:616.98:636.8
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_85

ИММУНОПРОФИЛАКТИКА КАЛИЦИВИРОЗА КОШЕК

Сергей Петрович Данников, доктор биологических наук, доцент, *ds.as@mail.ru*
Валерия Николаевна Шахова, доктор биологических наук, доцент, *shahovavalerochka@yandex.ru*
Николай Алексеевич Гвоздецкий, кандидат ветеринарных наук, *nikolay140890@mail.ru*

Ставропольский государственный аграрный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Сергей Петрович Данников.

Аннотация. Проанализированы и обобщены результаты отечественных и зарубежных научных исследований по вопросам иммунопрофилактики калицивируса кошек. Выяснено, что базовую вакцинацию и ревакцинацию кошек против FCV по-прежнему рекомендуется проводить согласно действующим рекомендациям ABCD, AAEP и WSAVA. Кошки, переболевшие FCV не защищены пожизненно и должны быть регулярно вакцинированы. Помимо парентерального способа введения вакцин, имеются сведения об эффективном применении интраназальной вакцинации инактивированными частицами FCV. Высокий уровень генетической изменчивости вируса остается важным фактором в создании оптимальных мер для иммунопрофилактики FCV. Молекулярно-диагностические исследования показали, что после вакцинации выделение вируса является достаточно редким явлением. Степень защищенности от заражения FCV после однократного введения вакцин разных производителей, очевидно, отличается. Для преодоления подобных проблем был успешно разработан и апробирован новый вакцинальный рекомбинантный штамм FHV Δ gI/gE-FCV VP1, показавший хорошие результаты по эффективности и безопасности. Имеются сведения о том, что, вопреки многим представлениям, формирование иммунитета против FCV наступает уже через неделю после первичной вакцинации, при этом степень защиты при экспериментальном заражении сопоставима со сроком через 3-4 недели после введения вакцины. Отсутствие субъединичной вакцины против FCV послужило началом проведения исследований в этом направлении, в которых было установлено, что область CDE белка VP1 FCV является потенциальным кандидатом для ее создания. Разработана и успешно апробирована вакцина на основе вирусоподобных частиц DL39-ВПЧ, показавшая хорошие результаты при клинических испытаниях. Кроме того, опубликованы сведения о создании репликационно-дефектной вакцины против калицивируса кошек, которая привела к выработке у кошек нейтрализующих антител широкого спектра действия против штаммов FCV.

Ключевые слова: инфекционные болезни, вирусы кошек, калицивироз, респираторные болезни, иммунопрофилактика, вакцинация

Для цитирования: Данников С. П., Шахова В. Н., Гвоздецкий Н. А. Иммунопрофилактика калицивируса кошек // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 85 – 91. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_85

IMMUNOPROPHYLAXIS OF FELINE CALICIVIRUS

Sergey P. Dannikov, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, *ds.as@mail.ru*
Valeria N. Shakhova, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, *shahovavalerochka@yandex.ru*
Nikolay A. Gvozdetsky, Candidate of Veterinary Sciences, *nikolay140890@mail.ru*

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Stavropol State Agrarian University»

Corresponding author: Sergey Petrovich Dannikov.

Keywords: infectious diseases, feline viruses, calicivirus, respiratory diseases, immunoprophylaxis, vaccination

Введение. Калицивирус кошек (FCV) – это высококонтагиозный патоген, широко распространенный среди семейства кошачьих, который способен избегать иммунного ответа хозяина с помощью различных механизмов. В результате, после острой фазы инфекции, некоторые кошки остаются инфицированными постоянно или переживают циклы повторного заражения вариантами того же штамма или другими полевыми штаммами FCV. Такие животные могут быть бессимптомными носителями, играя ключевую роль в передаче вируса и представляя значительный риск для восприимчивых кошек, особенно в условиях высокой плотности популяции [1].

Заболеваемость кошек FCV в России и во всем мире не имеет выраженной тенденции к снижению и продолжает занимать одну из лидирующих позиций в разрезе инфекционной патологии [2, 3, 4, 5, 6]. Вакцинация защищает кошек от вирусных заболеваний, стимулируя выработку антител и клеточный иммунный ответ. Первичная вакцинация и ревакцинация проводятся в соответствии с рекомендациями, разработанными отраслевыми и ветеринарными организациями, с учетом минимальной продолжительности иммунитета. Результаты тестирования на антитела у взрослых кошек могут служить основанием для соответствующего срока повторной вакцинации, однако в случае с FCV титр антител не коррелирует, либо он слабо выражен по отношению к уровню защиты от заражения [7].

Высокая генетическая изменчивость FCV создает необходимость непрерывного филогенетического анализа с последующим созданием эффективных способов иммунопрофилактики [8, 9, 10]. Вирус эволюционирует как внутри отдельных кошек, так и в среде кошачьих колоний. Эта эволюция и создаваемое ею разнообразие имеют важные клинические последствия не только для кошек, но и для попыток контролировать заболевание с помощью вакцинации. В целом существующие вакцины очень эффективны в борьбе с большинством штаммов заболевания. Однако остаются некоторые проблемы, в том числе неспособность вызвать стерильный иммунитет, периодические проблемы с эффективностью, при использовании живых вакцин – случаи заболевания, вызванного ее введением. Ключевые направления разработки вакцин будущего включают в себя мониторинг и расширение перекрестной реактивности вакцинного иммунитета по отношению к полевым штаммам вируса, особенно к недавно появившемуся вирулентному системному калицивирусу кошек (VS-FCV), а также попытки уменьшить/предотвратить выделение полевых штаммов вируса вакцинированными кошками [11]. В связи с вышеизложенным, поиск решений в отношении эффективной иммунопрофилактики калицивируса кошек остается актуальной проблемой ветеринарной медицины.

Цель обзора – проанализировать и обобщить результаты отечественных и зарубежных научных исследований по вопросам иммунопрофилактики калицивируса кошек.

Материалы и методы. Проведен поиск обзорных и оригинальных научных публикаций (на русском и английском языках), в которых отражены вопросы иммунопрофилактики FCV. Поиск публикаций осуществлялся в научных электронных библиотеках «eLIBRARY.RU» и «КиберЛенинка», в информационных поисковых системах «PubMed», «ResearchGate», «OpenAlex» и «Google Scholar». Временной диапазон поиска был неограниченным, в обзор не были включены публикации из не рецензируемых изданий.

Результаты исследований и их обсуждение. Согласно рекомендация ABCD (European Advisory Board on Cat Diseases), вакцину против калицивируса рекомендуется вводить двукратно в возрасте 9 и 12 недель, затем первую ревакцинацию через год, а уже в дальнейшем каждые 3 года. В ситуациях повышенного риска заражения рекомендуется сделать дополнительную вакцинацию в возрасте 16 недель. Кошки, переболевшие калицивирозом, не защищены пожизненно и их все равно рекомендуется регулярно вакцинировать [12]. Помимо ABCD, в большинстве зарубежных руководств, в том числе AAFP (American Association of Feline Practitioners) и WSAVA (World Small Animal Veterinary Association), также рекомендуется проводить ревакцинацию с интервалом в 3 года после базовой вакцинации в 9, 12 недель и через год. К тому же контролируемое исследование показало, что первичная вакцинация и ревакцинация через год препаратом PUREVAX RCPCh FeLV обеспечивают трёхлетний иммунитет против FCV и FHV-1. Результаты этого исследования подтверждают действующие рекомендации по вакцинации и позволят ветеринарным врачам адаптировать схему вакцинации к образу жизни кошки [13]. В других исследованиях 42 серонегативным кошкам проведена первичная вакцинация в возрасте 8 недель и повторная в возрасте 12 недель. Все кошки находились в строгой изоляции в течение 3 лет после второй вакцинации, а затем были заражены сначала FCV, затем герпес вирусом 1 типа (FHV-1) и далее панлейкопенией (FPV). Для каждого вирусного заражения была сформирована отдельная группа из 10 невакцинированных кошек того же возраста. Вакцинированные кошки продемонстрировали статистически значимое снижение клинических симптомов, связанных с FHV ($P=0,015$), 100% защиту от изъязвлений полости рта, связанных с FCV ($P<0,001$), и

100% защиту от вирулентного заражения FPV ($P < 0,005$). Эти результаты еще раз наглядно продемонстрировали, что вакцина обеспечивала защиту от заражения FRV, FCV и FPV у кошек в возрасте 8 недель и старше в течение как минимум 3 лет после второй вакцинации [14].

Имеются сведения о том, что интраназальная иммунизация инактивированными частицами FCV обеспечивает надежную защиту от гомологичного вируса и подавление гетерологичного вируса у кошек [15].

Несмотря на множество научно доказанных фактов о высокой генетической изменчивости FCV, S. L. Smith et al. (2020) [16] проверили, не приводит ли продолжающееся применение одного из наиболее часто используемых в мире штаммов для вакцин FCV-F9 к появлению невосприимчивых к ним вирусов. Для этого использовались две репрезентативные выборки полевых изолятов, ранее полученных от кошек, которые обращались в случайно выбранные ветеринарные клиники по всей Великобритании в рамках отдельных исследований, проведенных в 2001 и 2013–2014 годах. Для сравнения генетических и антигенных связей между этими популяциями и FCV-F9 использовались филогенетический анализ и тесты на нейтрализацию вируса *in vitro*. Однако несмотря на то, что FCV является высокоизменчивым вирусом, авторы данного исследования не обнаружили признаков постепенного отклонения полевого вируса от вакцинного штамма FCV-F9 ни в филогенетическом, ни в антигенном отношении. Антитела к FCV-F9 сохраняют широкую и одинаковую перекрестную реактивность с двумя географически репрезентативными и разделенными во времени популяциями FCV. Авторы предполагают, что это может быть связано с тем, что иммунодоминантная область капсида FCV, отвечающая за нейтрализацию, может иметь структурные ограничения, препятствующие ее дальнейшей антигенной эволюции. Однако в Китае уже в 2025 году филогенетический анализ FCV, приведенный Y. Zhang et al. (2025) [17], показал возникновение новой, ранее не описанной геногруппы III. Сопоставление этих данных может указывать на то, что генетическая изменчивость FCV в различных регионах неодинакова, а для подтверждения или опровержения возможных механизмов, ограничивающих его в эволюции, требуются более масштабные пространственно-временные и молекулярно-генетические исследования.

Обращаясь к вопросу выделения FCV у животных после иммунизации, R.A. Ruch-Gallie et al. (2011) [18] провели молекулярную диагностику у взрослых животных, которым вводили модифицированные живые вакцины. Для этого у кошек брали образцы из носа и глотки на -7-й, -3-й и 0-й дни до вакцинации и на 3-й, 7-й, 10-й, 14-й, 17-й, 21-й и 28-й дни после введения вакцины против FCV. РНК вируса была обнаружена у 2,9 % особей до вакцинации и в 7,8 % после вакцинации. Эти исследования свидетельствуют о том, что выделение FCV у кошек после вакцинации является достаточно редким явлением.

S. Arcidiaco et al. (2024) [19] предприняли попытку сравнения эффективности вакцин Leucofeligen FeLV/RCP (Virbac, Франция) и вакцины Purevax RCPFeLV (Boehringer Ingelheim, Германия) после однократного введения. Результаты показали, что вакцина Leucofeligen FeLV/RCP может защитить котят от инфекции, вызванной FCV, уменьшая клинические проявления и выделение вируса через три недели после первой инъекции при первичной вакцинации, в то время как вакцина Purevax RCP FeLV не может обеспечить такой же уровень защиты в аналогичных экспериментальных условиях.

Применение существующих инактивированных или модифицированных живых вакцин против FCV и FHV сталкивается с ограничениями по безопасности и эффективности. Для преодоления этих проблем недавно был разработан рекомбинантный штамм FHV Δ gI/gE-FCV VP1 путем делеции гена gI/gE и одновременной экспрессии FCV VP1, используя штамм FHV WX19 в качестве родительского вируса. Результаты показали наличие FCV VP1 в клетках кошачьей почки Крэнделла-Риза (CRFK), инфицированных FHV Δ gI/gE-FCV VP1, что подтверждено с помощью белкового блоттинга и иммунофлуоресцентного анализа, а вирусоподобные частицы FCV были обнаружены с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Все вакцинации FHV Δ gI/gE-FCV VP1 были признаны безопасными, при этом наблюдалось значительное снижение клинических показателей заболевания, патологических изменений и назального выделения вируса после инфицирования, а также был индуцирован устойчивый иммунный ответ [20].

Интересный факт был продемонстрирован D. Jas et al. (2009) [21], которые сравнивали степень защищенности от FPV, FHV и FCV у животных через неделю и через 3–4 недели после вакцинации. Оказалось, что относительная эффективность вакцинации была сопоставима независимо от того, заражали животных через неделю или через 3–4 недели после вакцинации. После недельного испытания у вакцинированных кошек значительно снизилась экскреция вирусов FPV, FHV и FCV по

сравнению с контрольными животными, что подтверждает формирование иммунитета в течение 7 дней после вакцинации.

S. Dawson et al. (2001) [22] оценивали эффективность вакцинации у 6-недельных котят. Для этого в возрасте 6, 9 и 12 недель (ранний график) или 9 и 12 недель (традиционный график) кошкам вводили трехвалентную (против FPV, FHV и FCV) модифицированную живую вакцину, с последующей оценкой серологического ответа на вакцинацию. Также в возрасте 6 недель определялся уровень антител, полученных от матери. Ранняя вакцинация в возрасте 6 недель вызвала выработку антител к каждому из вирусов у значительной части котят к 9-недельному возрасту, по сравнению с невакцинированными котятками из того же помёта. К 12 и 15 недельному возрасту не было выявлено различий по уровню антител к любому антигену между группами, где использовался традиционный и ранний график вакцинации.

Говоря о вакцинации в приютах для животных, представленных в работе P. Dall'Ara et al. (2019) [23], то на момент поступления в приют у большинства кошек не было антител к вирусам FPV, FHV1 и FCV. Эти данные соответствуют действующим рекомендациям, согласно которым всех кошек следует вакцинировать сразу после поступления в приют, независимо от источника потенциального заражения или физического состояния.

Субъединичные вакцины отличаются безопасностью, низкой стоимостью и превосходной иммуногенностью, но в настоящее время данных вакцин против FCV не существует. Однако L. Li et al. (2024) [24] выяснили, что область CDE белка VP1 FCV является потенциальным кандидатом для создания субъединичной вакцины. Участок CDE капсида FCV прост в производстве, обладает высокой стабильностью и отличной иммуногенностью, что делает его перспективным кандидатом для создания доступных вакцин.

В исследованиях Y. Yang et al. (2024) [25] были созданы вирусоподобные частицы (ВПЧ), названные DL39-ВПЧ, с использованием гена VP1 штамма FCV DL39 с широкими нейтрализующими и защитными свойствами в качестве матрицы для системы экспрессии в клетках насекомых. Кошки были иммунизированы дозой 50 мкг DL39-ВПЧ, смешанных с масляным адъювантом, путем подкожной инъекции. Установлено, что у кошек, иммунизированных DL39-ВПЧ, не было выраженных клинических симптомов, значительно снижено выделение вируса и виремия после заражения, по сравнению с неиммунизированными животными. По мнению авторов данного исследования, DL39-ВПЧ – новый кандидат для изготовления вакцины, являющийся потенциально важным инструментом профилактики FCV и контроля над ним.

Данные представленные L.M. Sommerville et al. (2002) [26] показывают, что частичная защита от FCV возможна при использовании ДНК-вакцины, но для повышения эффективности могут потребоваться и другие подходы, такие как использование генов цитокинов или протоколов прайм-буст.

В 2025 году опубликованы сведения о создании репликационно-дефектной вакцины против FCV. После иммунизации этой вакциной вырабатывался высокий уровень нейтрализующих антител, а клинические проявления заражения гомологичным VS-FCV значительно снижались. Кроме того, ген белка VP1 в вакцине был заменён на ген, полученный из гетерологичного штамма вируса. Вакцинация двумя комбинированными вирусными конструкциями, содержащими генетически удалённые гены VP1, привела к выработке у кошек нейтрализующих антител широкого спектра действия против штаммов FCV [27].

Немаловажным фактом для профилактики вспышек заболеваемости FCV у кошек остается превентивная ветеринарная медицина, а именно соблюдение ветеринарно-санитарных правил и норм, что, наряду с иммунопрофилактикой, помогает значительно снижать уровень заболеваемости [28].

Заключение. Базовую вакцинацию и ревакцинацию кошек против FCV по-прежнему рекомендуется проводить согласно действующим рекомендациям ABCD, AAFP и WSAVA. Кошки, переболевшие FCV, не защищены пожизненно и их все равно рекомендуется регулярно вакцинировать. Помимо парентерального способа введения вакцин, имеются сведения об эффективном применении интраназальной вакцинации инаktivированными частицами FCV.

Важный фактор в создании оптимальных мер для иммунопрофилактики FCV – высокий уровень генетической изменчивости вируса, однако литературные данные указывают на то, что в различных регионах эта тенденция неодинакова, а для подтверждения или опровержения возможных механизмов, ограничивающих FCV в эволюции, требуются более масштабные пространственно-временные и молекулярно-генетические исследования.

Результаты молекулярно-диагностических исследований на наличие FCV у взрослых животных, которым вводили модифицированные живые вакцины показали, что до и после вакцинации выделение вируса может быть, но это является достаточно редким явлением. Исследования по сравни-

тельной эффективности вакцин для кошек разных производителей после однократно введения молодым животным показали, что степень защищённости от заражения FCV после их введения очевидно различается. Для преодоления подобных проблем был успешно разработан и апробирован новый вакцинальный рекомбинантный штамм FHV Δ gI/gE-FCV VP1, показавший хорошие результаты по эффективности и безопасности. Имеются сведения о том, что, вопреки многим представлениям, формирование иммунитета против FCV наступает уже через неделю после первичной вакцинации, при этом степень защиты при экспериментальном заражении сопоставима со сроком через 3-4 недели после введения вакцины.

Отсутствие субъединичной вакцины против FCV послужило началом проведения исследований в этом направлении, в которых было установлено, что область CDE белка VP1 FCV является потенциальным кандидатом для ее создания. Разработана и успешно апробирована вакцина на основе вирусоподобных частиц DL39-ВПЧ, показавшая хорошие результаты при клинических испытаниях. Кроме того, уже опубликованы сведения о создании репликационно-дефектной вакцины против FCV, которая привела к выработке у кошек нейтрализующих антител широкого спектра действия против штаммов FCV.

Список источников

1. Feline Calicivirus Infection: Current Understanding and Implications for Control Strategies / F. Di Profio, [et al.] // *Animals (Basel)*. 2025. Vol.15, №14. A.2009. DOI: 10.3390/ani15142009
2. Анализ уровня популяционной восприимчивости кошек к респираторным болезням вирусной этиологии / Т. В. Овсяно [и др.] // *Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии*. 2021. Т. 29, № 1. С. 18-23
3. Коняев, С.В. Распространенность возбудителей респираторных инфекций кошек и собак в России // *Российский ветеринарный журнал*. 2020. № 1. С. 9-13. DOI: 10.32416/2500-4379-2020-2020-1-9-13
4. European molecular epidemiology and strain diversity of feline calicivirus / J. Hou [et al.] // *Vet Rec*. 2016 Vol.178, № 5. P.114-115. DOI: 10.1136/vr.103446
5. Analysis of Genetic Diversity Based on Sequences of Feline Calicivirus Strains Isolated in China / Y. Yang [et al.] // *Transbound Emerg Dis*. 2025. Vol. 2025. A.9924540. DOI: 10.1155/tbed/9924540
6. Genetic Diversity and Evolution of Viruses Infecting *Felis catus*: A Global Perspective / S.J. Le, G.Y. Xin, W.C. Wu, M. Shi // *Viruses*. 2023. Vol. 15, №6. A.1338. DOI: 10.3390/v15061338
7. Vaccination and Antibody Testing in Cats / H. Egberink [et al.]. // *Viruses*. 2022. Vol. 14, № 8. A.1602. DOI: 10.3390/v14081602
8. Molecular Characterization and Cross-Reactivity of Feline Calicivirus Circulating in Southwestern China / L. Zhou [et al.] // *Viruses*. 2021. Vol. 13, № 9. A.1812. DOI: 10.3390/v13091812
9. Discovery of a novel genogroup feline calicivirus through molecular evolution in group-housed cats in China / Y. Zhang [et al.] // *Sci Rep*. 2025. Vol.15, № 1. A.19059. DOI: 10.1038/s41598-025-03585-5
10. Liang, J. Genetic and phylogenetic analysis of capsid gene of feline calicivirus in Nanjing, China / J. Liang, M. Zang, Z. Zhou // *Infect Genet Evol*. 2022. Vol. 103. A.105323. DOI: 10.1016/j.meegid.2022
11. The challenge for the next generation of feline calicivirus vaccines / A. D. Radford [et al.] // *Vet Microbiol*. 2006. Vol. 117, №1. P.14-8. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.04.004
12. Feline calicivirus infection. ABCD guidelines on prevention and management / Radford A.D.[et al.] // *J Feline Med Surg*. 2009. Vol.11, №7. P. 556-564. DOI: 10.1016/j.jfms.2009.05.004
13. Three-year duration of immunity for feline herpesvirus and calicivirus evaluated in a controlled vaccination-challenge laboratory trial / D. Jas [et al.] // *Vet Microbiol*. 2015. Vol. 177, №1-2. P. 123-131. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.03.009
14. Three-year duration of immunity in cats following vaccination against feline rhinotracheitis virus, feline calicivirus, and feline panleukopenia virus / Gore TC, [et al.]// *Vet Ther*. 2006. Vol. 7, № 3. P.213-222
15. Intranasal immunization with inactivated feline calicivirus particles confers robust protection against homologous virus and suppression against heterologous virus in cats / H. Sato [et al.] // *J Gen Virol*. 2017. Vol. 98, № 7. P. 1730-1738. DOI: 10.1099/jgv.0.000827
16. Temporally separated feline calicivirus isolates do not cluster phylogenetically and are similarly neutralised by high-titre vaccine strain FCV-F9 antisera in vitro / S. L. Smith [et al.] // *J Feline Med Surg*. 2020. Vol. 22, № 6. P. 602-607. DOI: 10.1177/1098612X19866521
17. Discovery of a novel genogroup feline calicivirus through molecular evolution in group-housed cats in China / Y. Zhang [et al.] // *Sci Rep*. 2025. Vol.15, № 1. A.19059. DOI: 10.1038/s41598-025-03585-5

18. Results of molecular diagnostic assays targeting feline herpesvirus-1 and feline calicivirus in adult cats administered modified live vaccines / R.A. Ruch-Gallie, J.K. Veir, J.R. Hawley, M.R. Lappin // *J Feline Med Surg*. 2011. Vol.13, № 8. P. 541-545. DOI: 10.1016/j.jfms.2010.12.010
19. Vaccines efficacy against infection with circulating feline calicivirus after one single injection: Comparison of Leucofeligen FeLV/RCP and Purevax RCPFeLV vaccines / S. Arcidiaco [et al.] // *Vaccine*. 2024. Vol. 42, №26. A. 126393. DOI: 10.1016/j.vaccine.2024.126393
20. The recombinant feline herpesvirus 1 expressing feline Calicivirus VP1 protein is safe and effective in cats / A. Tang [et al.] // *Vaccine*. 2024. Vol.42, №26. A.126468. DOI: 10.1016/j.vaccine.2024.126468
21. Onset of immunity in kittens after vaccination with a non-adjuvanted vaccine against feline panleucopenia, feline calicivirus and feline herpesvirus / D. Jas, C. Aeberlé, V. Lacombe, A.L. Guiot, H. Poulet // *Vet J*. 2009. Vol. 182, № 1. P. 86-93. DOI: 10.1016/j.tvjl.2008.05.025
22. A field trial to assess the effect of vaccination against feline herpesvirus, feline calicivirus and feline panleucopenia virus in 6-week-old kittens / S. Dawson [et al.] // *J Feline Med Surg*. 2001. Vol. 3, № 1. P.17-22. DOI: 10.1053/jfms.2000.0154
23. Prevalence of serum antibody titres against feline panleukopenia, herpesvirus and calicivirus infections in stray cats of Milan, Italy / P. Dall'Ara [et al.] // *Prev Vet Med*. 2019. Vol. 167. P. 32-38. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.03.010
24. The CDE region of feline Calicivirus VP1 protein is a potential candidate subunit vaccine / L. Li [et al.] // *BMC Vet Res*. 2024. Vol. 20, №1. A.80. DOI: 10.1186/s12917-024-03914-2
25. An effectively protective VLP vaccine candidate for both genotypes of feline calicivirus / Y. Yang [et al.] // *Front Immunol*. 2024. Vol. 15. A.1515342. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1515342
26. DNA vaccination against feline calicivirus infection using a plasmid encoding the mature capsid protein / L.M. Sommerville [et al.] // *Vaccine*. 2002. Vol. 20, №13-14, P.1787-1796. DOI: 10.1016/s0264-410x(02)00024-5
27. A novel replication-deficient FCV vaccine provides strong immune protection in cats / W. Heng [et al.] // *J Virol*. 2025. Vol. 99, № 8. A.e0009325. DOI: 10.1128/jvi.00093-25
28. Беляева, С.Н. Превентивные меры профилактики вирусных заболеваний животных в г. Белгороде / С.Н. Беляева, К.А. Деринг // *Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии*. 2020. Т. 17. № 3. С. 9-18.

References

1. Feline Calicivirus Infection: Current Understanding and Implications for Control Strategies / F. Di Profio, [et al.] // *Animals (Basel)*. 2025. Vol.15, №14. A.2009. DOI: 10.3390/ani15142009
2. Analysis of the level of population susceptibility of cats to respiratory diseases of viral etiology / T.V. Ovsyukhno [et al.] // *Bulletin of the Nizhny Novgorod State Agricultural Academy*. 2021. Vol. 29, № 1. P. 18-23
3. Konyaev S.V. Prevalence of causative agents of respiratory infections in cats and dogs in Russia // *Russian Veterinary Journal. (Rossijskij veterinarnyj zhurnal)*. 2020;1: 9-13. (In Russ.) DOI: 10.32416/2500-4379-2020-2020-1-9-13
4. European molecular epidemiology and strain diversity of feline calicivirus / J. Hou [et al.] // *Vet Rec*. 2016 Vol.178, № 5. P.114-115. DOI: 10.1136/vr.103446
5. Analysis of Genetic Diversity Based on Sequences of Feline Calicivirus Strains Isolated in China / Y. Yang [et al.] // *Transbound Emerg Dis*. 2025. Vol. 2025. A.9924540. DOI: 10.1155/tbed/9924540
6. Genetic Diversity and Evolution of Viruses Infecting *Felis catus*: A Global Perspective / S.J. Le, G.Y. Xin, W.C. Wu, M. Shi // *Viruses*. 2023. Vol. 15, №6. A.1338. DOI: 10.3390/v15061338
7. Vaccination and Antibody Testing in Cats / H. Egberink [et al.] // *Viruses*. 2022. Vol. 14, № 8. A.1602. DOI: 10.3390/v14081602
8. Molecular Characterization and Cross-Reactivity of Feline Calicivirus Circulating in Southwestern China / L. Zhou [et al.] // *Viruses*. 2021. Vol. 13, № 9. A.1812. DOI: 10.3390/v13091812
9. Discovery of a novel genogroup feline calicivirus through molecular evolution in group-housed cats in China / Y. Zhang [et al.] // *Sci Rep*. 2025. Vol.15, № 1. A.19059. DOI: 10.1038/s41598-025-03585-5
10. Liang, J. Genetic and phylogenetic analysis of capsid gene of feline calicivirus in Nanjing, China / J. Liang, M. Zang, Z. Zhou // *Infect Genet Evol*. 2022. Vol. 103. A.105323. DOI: 10.1016/j.meegid.2022
11. The challenge for the next generation of feline calicivirus vaccines / A. D. Radford [et al.] // *Vet Microbiol*. 2006. Vol. 117, №1. P.14-8. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.04.004

12. Feline calicivirus infection. ABCD guidelines on prevention and management / Radford A.D.[et al.] // *J Feline Med Surg*. 2009. Vol.11, №7. P. 556-564. DOI: 10.1016/j.jfms.2009.05.004
13. Three-year duration of immunity for feline herpesvirus and calicivirus evaluated in a controlled vaccination-challenge laboratory trial / D. Jas [et al.] // *Vet Microbiol*. 2015. Vol. 177, №1-2. P. 123-131. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.03.009
14. Three-year duration of immunity in cats following vaccination against feline rhinotracheitis virus, feline calicivirus, and feline panleukopenia virus / Gore TC, [et al.]// *Vet Ther*. 2006. Vol. 7, № 3. P.213-222
15. Intranasal immunization with inactivated feline calicivirus particles confers robust protection against homologous virus and suppression against heterologous virus in cats / H. Sato [et al.] // *J Gen Virol*. 2017. Vol. 98, № 7. P. 1730-1738. DOI: 10.1099/jgv.0.000827
16. Temporally separated feline calicivirus isolates do not cluster phylogenetically and are similarly neutralised by high-titre vaccine strain FCV-F9 antisera in vitro / S. L. Smith [et al.] // *J Feline Med Surg*. 2020. Vol. 22, № 6. P. 602-607. DOI: 10.1177/1098612X19866521
17. Discovery of a novel genogroup feline calicivirus through molecular evolution in group-housed cats in China / Y. Zhang [et al.] // *Sci Rep*. 2025. Vol.15, № 1. A.19059. DOI: 10.1038/s41598-025-03585-5
18. Results of molecular diagnostic assays targeting feline herpesvirus-1 and feline calicivirus in adult cats administered modified live vaccines / R.A. Ruch-Gallie, J.K. Veir, J.R. Hawley, M.R. Lappin // *J Feline Med Surg*. 2011. Vol.13, № 8. P. 541-545. DOI: 10.1016/j.jfms.2010.12.010
19. Vaccines efficacy against infection with circulating feline calicivirus after one single injection: Comparison of Leucofeligen FeLV/RCP and Purevax RCPFeLV vaccines / S. Arcidiaco [et al.] // *Vaccine*. 2024. Vol. 42, №26. A. 126393. DOI: 10.1016/j.vaccine.2024.126393
20. The recombinant feline herpesvirus 1 expressing feline Calicivirus VP1 protein is safe and effective in cats / A. Tang [et al.] // *Vaccine*. 2024. Vol.42, №26. A.126468. DOI: 10.1016/j.vaccine.2024.126468
21. Onset of immunity in kittens after vaccination with a non-adjuvanted vaccine against feline panleukopenia, feline calicivirus and feline herpesvirus / D. Jas, C. Aeberlé, V. Lacombe, A.L. Guiot, H. Poulet // *Vet J*. 2009. Vol. 182, № 1. P. 86-93. DOI: 10.1016/j.tvjl.2008.05.025
22. A field trial to assess the effect of vaccination against feline herpesvirus, feline calicivirus and feline panleukopenia virus in 6-week-old kittens / S. Dawson [et al.] // *J Feline Med Surg*. 2001. Vol. 3, № 1. P.17-22. DOI: 10.1053/jfms.2000.0154
23. Prevalence of serum antibody titres against feline panleukopenia, herpesvirus and calicivirus infections in stray cats of Milan, Italy / P. Dall'Ara [et al.] // *Prev Vet Med*. 2019. Vol. 167. P. 32-38. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.03.010
24. The CDE region of feline Calicivirus VP1 protein is a potential candidate subunit vaccine / L. Li [et al.] // *BMC Vet Res*. 2024. Vol. 20, №1. A.80. DOI: 10.1186/s12917-024-03914-2
25. An effectively protective VLP vaccine candidate for both genotypes of feline calicivirus / Y. Yang [et al.] // *Front Immunol*. 2024. Vol. 15. A.1515342. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1515342
26. DNA vaccination against feline calicivirus infection using a plasmid encoding the mature capsid protein / L.M. Sommerville [et al.] // *Vaccine*. 2002. Vol. 20, №13-14, P.1787-1796. DOI: 10.1016/s0264-410x(02)00024-5
27. A novel replication-deficient FCV vaccine provides strong immune protection in cats / W. Heng [et al.] // *J Virol*. 2025. Vol. 99, № 8. A.e0009325. DOI: 10.1128/jvi.00093-25
28. Belyaeva, S.N. Preventive measures for the prevention of animal viral diseases in Belgorod city / S.N. Belyaeva, K.A. Dering // *Current Issues in Agricultural Biology*. 2020. Vol. 17. № 3. P. 9-18.

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 10.03.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 92 – 98
The Veterinarian. 2026; (2): 92 – 98

Научная статья
УДК 616.98:579.841.93
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_92

РАЗРАБОТКА ПЦР-РВ ТЕСТ-СИСТЕМЫ «BRUCELLA RT» ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ИНДИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БРУЦЕЛЛЕЗА *B. ABORTUS* И *B. MELITENSIS*

Константин Анатольевич Осянин, кандидат биологических наук, kostja-2003@yandex.ru
Максим Аркадьевич Косарев, кандидат биологических наук, 2531468@mail.ru
Мария Евгеньевна Горбунова, кандидат биологических наук, maria.metax@bk.ru
Екатерина Алексеевна Додонова, katya.dodonova.80@mail.ru
Рафкат Искандарович Шангараев, кандидат ветеринарных наук, rafkat.shangaraev@mail.ru
Екатерина Витальевна Панкова, кандидат биологических наук, katerinka_ja@bk.ru
Елизавета Алексеевна Громова, кандидат биологических наук, elizaveta-real@mail.ru

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

Автор, ответственный за переписку: Константин Анатольевич Осянин.

Аннотация. Бруцеллез является особо опасной зоонозной инфекцией, которая требует своевременной точной и быстрой диагностики. Целью данной работы являлась разработка дифференцирующей ПЦР-РВ тест-системы «BRUCELLA RT» для дифференциальной индикации возбудителей бруцеллеза *B. abortus* и *B. melitensis*. С помощью биоинформационного анализа нуклеотидных последовательностей различных изолятов *B. abortus* и *B. melitensis*, обнаружены наиболее перспективные участки для индикации данных патогенов - локус «BAW-20082» (GenBank LT671513.1: 1003355 - 1004575) для *B. abortus* и фрагмент «C0R52_12390» (GenBank CP026006.1: 906042 -906524) относительно *B. melitensis*. Исходя из вариабельности нуклеотидных последовательностей выбранных регионов анализируемых штаммов, сконструированы олигонуклеотидные праймеры и зонды, пригодные для индикации искомым бруцелл методом ПЦР-РВ в одной пробирке, используя разные каналы флуоресценции. Для каждой из созданных комбинаций олигонуклеотидов с использованием специально разработанного положительного контроля, который представляет собой генетическую конструкцию плазмидной ДНК (5433 п.н.), содержащую маркеры для обнаружения всех определяемых видов бруцелл были проведены моно- и мультиплексные реакции. На основании полученных результатов определена программа амплификации и оптимальный состав реакционной ПЦР-РВ смеси. Установлено, что каждому биологическому патогену соответствовала индивидуальная флуоресцентная метка. Для апробации созданной ПЦР-РВ тест-системы «BRUCELLA RT» использовали штаммы *B. abortus* (№54, №19, №82, УФ-1, Ниви-86), *B. melitensis* (16М, ЯГ-56). При амплификации ДНК данных изолятов наблюдали рост сигнала флуоресценции по двум каналам HEX и CY5 величина порогового цикла *Ct* не более 18. ПКО по каналам HEX и CY5 с величиной порогового цикла *Ct* не более 9. Рост сигнала флуоресценции в ОКО не регистрировался ни по одному из каналов. Таким образом, нами продемонстрирована возможность проведения одновременной ПЦР для выявления геномов искомым патогенов.

Ключевые слова: *Brucella*, бруцеллез, индикация, олигонуклеотидные праймеры, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

Для цитирования: Осянин К. А., Косарев М. А., Горбунова М. Е., Додонова Е. А., Шангараев Р. И., Панкова Е. В., Громова Е. А. Разработка ПЦР-РВ тест-системы «BRUCELLA RT» для дифференциальной индикации возбудителей бруцеллеза *B. abortus* и *B. melitensis* // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 92 – 98. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_92

DEVELOPMENT OF THE «BRUCELLA RT» PCR-RT TEST SYSTEM FOR DIFFERENTIAL INDICATION OF BRUCELLOSIS CAUSES *B. ABORTUS* AND *B. MELITENSIS*

Konstantin A. Osyanin, candidate of biological sciences, *kostja-2003@yandex.ru*
 Maksim A. Kosarev, candidate of biological sciences, *2531468@mail.ru*
 Maria E. Gorbunova, candidate of biological sciences, *maria.metax@bk.ru*
 Ekaterina A. Dodonova, *katya.dodonova.80@mail.ru*
 Rafkat I. Shangaraev, candidate of veterinary sciences, *rafkat.shangaraev@mail.ru*
 Ekaterina V. Pankova, candidate of biological sciences, *katerinka_ja@bk.ru*
 Elizaveta A. Gromova, candidate of biological sciences, *elizaveta-real@mail.ru*

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

Corresponding author: Konstantin Anatolyevich Osyanin.

Abstract. Brucellosis is a particularly dangerous zoonotic infection that requires timely, accurate, and rapid diagnosis. The purpose of this work was to develop a differentiating PCR-RT test system, "BRU-CELLA RT", for the differential indication of brucellosis pathogens, *B. abortus* and *B. melitensis*. Bioinformatic analysis of the nucleotide sequences of various isolates of *B. abortus* and *B. melitensis* revealed the most promising sites for the indication of these pathogens - the locus "BAW-20082" (GenBank LT671513.1:1003355 - 1004575) for *B. abortus* and fragment "C0R52_12390" (GenBank CP026006.1:906042 -906524) relative to *B. melitensis*. Based on the variability of the nucleotide sequences of the selected regions of the analyzed strains, oligonucleotide primers and probes were designed that can be used to detect the desired *Brucella* species using PCR-RT in a single tube, using different fluorescence channels. For each of the created oligonucleotide combinations, mono- and multiplex reactions were performed using a specially designed positive control, which is a genetic construct of plasmid DNA (5433 bp) containing markers for detecting all identified species of *Brucella*. Based on the results obtained, an amplification program and the optimal composition of the PCR-RT reaction mixture were determined. It was found that each biological pathogen had its own individual fluorescent label. To test the created PCR-RT test system "BRU-CELLA RT", strains of *B. abortus* (№54, №19, №82, UF-1, Nivi-86), *B. melitensis* (16M, YAG-56), were used. When amplifying the DNA of these isolates, we observed an increase in the fluorescence signal in the HEX and CY5 channels, with a threshold cycle of Ct no more than 18. The fluorescence signal in the HEX and CY5 channels did not increase in the negative control sample. Thus, we have demonstrated the possibility of conducting simultaneous PCR to detect the genomes of the pathogens being sought.

Keywords: *Brucella*, brucellosis, indication, oligonucleotide primers, real-time polymerase chain reaction

Введение. Бруцеллез – особо опасное зооантропонозное бактериальное заболевание, возбудителем которого являются бактерии рода *Brucella*. Данное заболевание имеет склонность к хроническому рецидивирующему течению и протекает в большинстве случаев бессимптомно характеризуется поражением репродуктивной системы животного, приводя к выкидышам, бесплодию и снижению продуктивности стада. Заражение происходит преимущественно при прямом контакте с инфицированными животными, что особенно актуально для работников животноводства, а также при употреблении в пищу непастеризованных продуктов животного происхождения. Бруцеллез распространен преимущественно в странах с интенсивным животноводством [1]. Эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в России остается сложной, особенно в таких регионах как Северо-Кавказский, Южный и Сибирский федеральные округа, где сосредоточено подавляющее большинство случаев среди крупного рогатого скота (более 80% общего количества больных животных в РФ) и мелкого рогатого скота (более 90%) [2].

На сегодняшний день род *Brucella* характеризуется 12 видами, из которых наиболее патогенными для человека являются *B. melitensis*, *B. abortus* и некоторые биовары *B. suis* и *B. canis* [3]. Несмотря на высокую степень генетической идентичности, достигающую около 97%, различные виды бруцелл демонстрируют выраженную тропность к определенным видам животных [4]. Так, основным резервуаром *B. abortus* является крупный рогатый скот, *B. melitensis* циркулирует в популяциях овец и коз, *B. canis* ассоциирована с собаками, а *B. suis* - свиньи (биовары 1, 2 и 3), северные олени (биовар 4) и мелкие грызуны (биовар 5) [3].

Основными причинами, способствующими распространению бруцеллеза, являются неэффективная диагностика в связи с низкой аналитической чувствительностью и специфичностью применя-

емых диагностических тестов, а также неполный охват при скрининговых исследованиях животных [5]. В настоящее время основными методами диагностики бруцеллеза являются микробиологические и серологические способы исследования. Микробиологический метод предполагает прямое обнаружение возбудителей *Brucella spp.* в биологических субстанциях и тканях инфицированных животных, что, помимо значительных рисков для безопасности медицинских работников, требует значительных временных и трудовых затрат. Серологические исследования показывают более высокую результативность, однако многими исследователями отмечено, что в раннем возрасте у телят и ягнят, полученных от больных животных, в сыворотках крови отсутствуют антитела и комплементсвязывающие вещества. Такие животные могут долгое время оставаться необнаруженными в стадах, представляя угрозу заражения для всего поголовья [6, 7]. Помимо того, в южных районах Российской Федерации животных подвергают иммунизации с помощью противобруцеллёзных вакцин, что может препятствовать правильности постановки серологических реакций за счет длительно присутствия антител в организме животного, что в свою очередь приводит к неправильно поставленному диагнозу на бруцеллез.

Наиболее оптимальным подходом для точной и более быстрой диагностики является применение молекулярно-генетических методов, в частности, основанных на полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Актуальной задачей является разработка специфичной ПЦР-РВ тест-системы, которая позволит проводить быструю видовую идентификацию возбудителя, так как от этого зависят дальнейшие действия ветеринарно-санитарной службы.

Целью данной работы является разработка дифференцирующей ПЦР-РВ тест-системы для индикации возбудителей бруцеллеза *B. abortus* и *B. melitensis*.

Материалы и методы. В работе использовали инаktivированные культуры клеток штаммов бруцелл *B. abortus* (№54, №19, №82, УФ-1, Ниви-86), *B. melitensis* (16М, ЯГ-56), в качестве отрицательного контрольного образца (ОКО) - *B. suis* 1330 («Государственная коллекция штаммов возбудителей ООБ, используемых в ветеринарии и животноводстве» ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»). Экстракцию ДНК проводили с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Состав реакционной смеси: специфические олигонуклеотидные праймеры и зонды с флуоресцентной меткой, дезоксирибоонуклеотидтрифосфаты, ПЦР-буфер, $MgCl_2$ и Taq-полимераза (набор реагентов R-412 ЗАО, «Синтол» (Россия), очищенная ДНК. Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ результатов осуществляли на измерительном модуле CFX96 в составе термоциклеров для амплификации нуклеиновых кислот («Bio-Rad», Сингапур).

В работе использовали нуклеотидные последовательности референсных штаммов *B. abortus* депонированные в базе данных GenBank под следующими номерами: CP081482.1, CP098068.1, CP107073.1, CP184330.1, CP098056.1, CP098098.1, CP081440.1, CP081454.1, CP098122.1, CP007701.1, CP098076.1, CP184328.1, CP022878.1, LT671513.1, CP098094.1: *B. melitensis* - CP018543.1, CP107069.1, CP026006.1, CP035798.1, CP018517.1, LT962937.1, LT962933.1, LT962921.1, CP018515.1, LT962948.1, CP058598.1, LT962941.1, LT962952.1, CP018537.1, CP184318.1. Множественное выравнивание нуклеиновых последовательностей бруцелл проводили в онлайн программе NCBI MSA Viewer 1.26.0 и MEGA 11. Дизайн олигонуклеотидов и положительного контрольного образца (ПКО) осуществляли с использованием программы Vector NTI 9.1 (Invitrogen Corporation) в соответствии с общими принципами, которые ранее описывали при разработке ПЦР-РВ тест-систем для индикации других патогенов [8, 9]. Олигонуклеотидные праймеры, зонды, ПКО синтезированы в ЗАО «Евроген» (Россия).

Результаты исследований и их обсуждение. В настоящем исследовании разработана ПЦР-РВ тест-система «BRUCELLA RT» для дифференциальной индикации возбудителей бруцеллеза *B. abortus* и *B. melitensis*.

На первом этапе работы по разработке тест-системы с помощью компьютерной программы BLAST на основании анализа нуклеотидных последовательностей референсных штаммов, опубликованных в GenBank сконструированы специфические праймеры Bru abortus F, Bru abortus R, Bru meli 3F, Bru meli 3R и флуоресцентно меченные зонды Bru meli 3Z, Bru abortus Z. С учетом того, что указанные выше комбинации олигонуклеотидов объединены в единую мультипраймерную смесь для визуализации сигнала флуоресценции, связанного с амплификацией ДНК *B. abortus* использовали канал HEX, *B. melitensis* - CY5. Такое разделение позволило провести отдельную детекцию разных видов бруцелл. Диагностическими мишенями были выбраны инсерционные последовательности: для *B. abortus* – локус «BAW-20082» (GenBank LT671513.1: 1003355 - 1004575), для *B. melitensis* – фрагмент «C0R52_12390» (GenBank CP026006.1: 906042 -906524). Данные о подобранных локусах и каналах детекции и представлены в таблице 1.

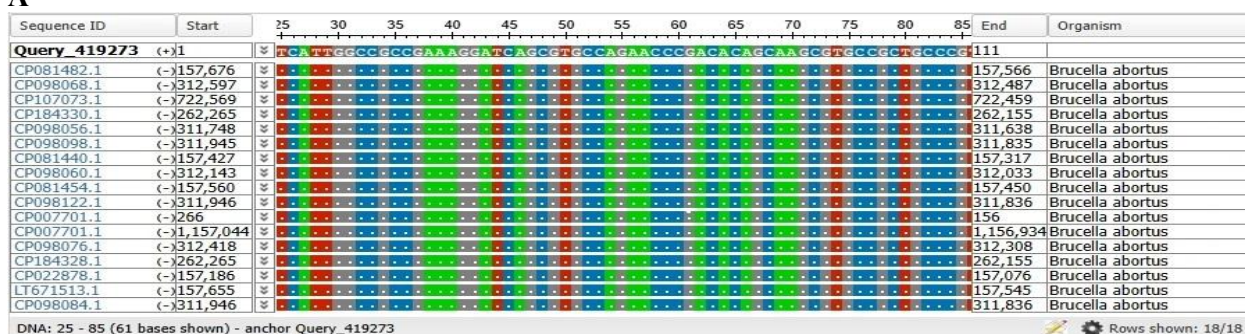
Таблица 1 – Характеристика специфических локусов, подобранных для индикации видов *B. abortus* и *B. melitensis*

Н	Вид	Локус	Локализация в геноме (GenBank)	Канал детекции
	<i>B. abortus</i>	BAW-20082	II хромосома: LT671513.1: 1003355 - 1004575	HEX
	<i>B. melitensis</i>	C0R52_12390	II хромосома: CP026006.1: 906042 - 906524	CY5

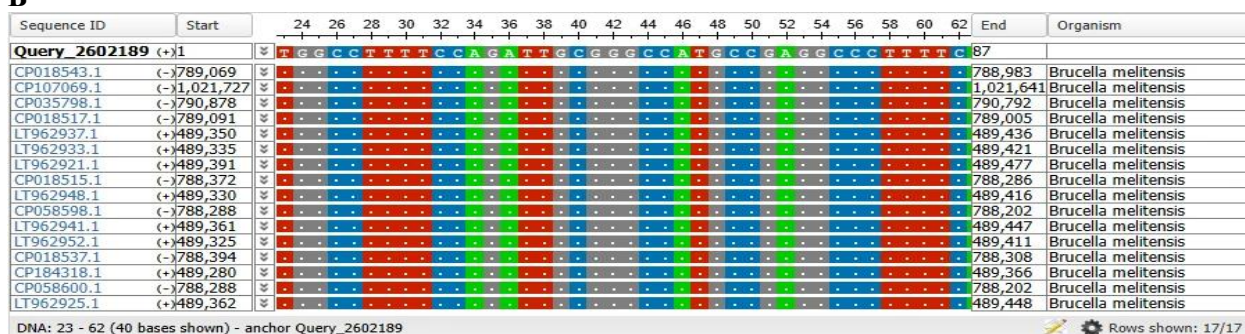
На рисунке 1 представлены нуклеотидные последовательности специфических локусов, подобранных для индикации видов *B. abortus* и *B. melitensis*.

Рисунок 1 – Сравнение нуклеотидных последовательностей специфических локусов, подобранных для индикации видов *B. abortus* (А) и *B. melitensis* (Б)

A

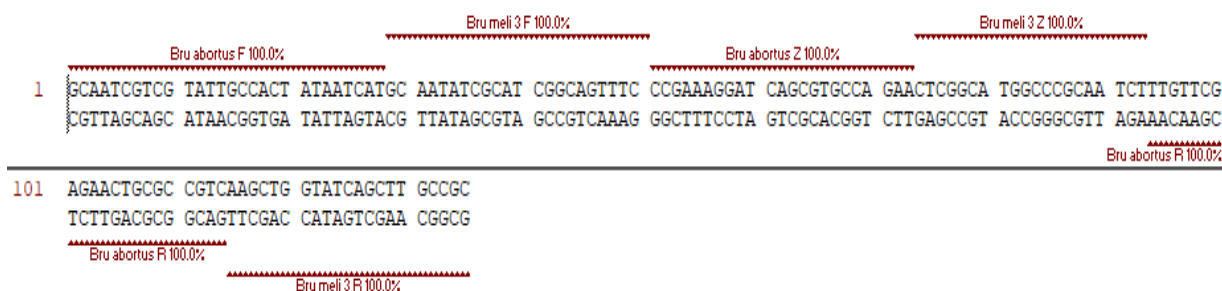


Б



При разработке ПКО была использована нуклеотидная последовательность, которая представляет собой чередование сконструированных праймеров и зондов для индикации *B. abortus* и *B. melitensis* (рисунок 2).

Рисунок 2 – Нуклеотидная последовательность разработанной генетической вставки ПКО



Представленная на рисунке 2 нуклеотидная последовательность была синтезирована в компании «Евроген» (г. Москва) и там же клонирована в вектор pET-28a+. В результате конструирования

длина вектора, содержащего маркерные последовательности для индикации всех определяемых видов бруцелл составила 5433 п.н.

После синтеза олигонуклеотидов и ПКО провели серию экспериментов с применением ПКО для разработки и оптимизации протокола ПЦР-РВ индикации *B. abortus* и *B. melitensis* в мультиплексном формате. На основании полученных результатов была составлена программа амплификации: начальная денатурация ДНК при 95 °С - 5 мин, 5 циклов: денатурация 95 °С – 15 с, отжиг олигонуклеотидов 61 °С – 35 с, далее 40 циклов: денатурация 94 °С – 15 с, отжиг праймеров 61 °С – 35 с (учет флуоресцентного сигнала по каналам HEX/CY5). Также был установлен оптимальный состав реакционной смеси (на одну реакцию): 1,5 мкл – 10 х 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 использованием указанного выше протокола постановки мультиплексной ПЦР-РВ происходит стабильное нарастание уровня флуоресценции по двум каналам – HEX для *B. abortus* и CY5 - *B. melitensis*.

Для апробации разработанной ПЦР-РВ тест-системы «BRUCELLA RT» использовали штаммы бруцелл *B. abortus* (№54, №19, №82, УФ-1, Ниви-86), *B. melitensis* (16М, ЯГ-56). Результат, полученный при амплификации ДНК данных изолятов представлен в таблице 2.

Таблица – 2. Результат ПЦР-анализа по индикации генома штаммов *B. abortus* и *B. melitensis*

Вид, штамм	Значения порогового цикла (Ct)	
<i>B. abortus</i> , №54	14,7	–
<i>B. abortus</i> , №19	15,4	–
<i>B. abortus</i> , №82	16,6	–
<i>B. abortus</i> , УФ-1	15,1	–
<i>B. abortus</i> , Ниви-86	15,8	–
<i>B. melitensis</i> , 16М	–	17,5
<i>B. melitensis</i> , ЯГ-56	–	16,8
ОКО	-	-
ПКО	11,2	10,3

При проведении ПЦР-РВ с образцами ДНК различных штаммов *B. abortus* и *B. melitensis* наблюдали рост сигнала флуоресценции по двум каналам HEX и CY5 величина порогового цикла Ct не более 18. ПКО по каналам HEX и CY5 с величиной порогового цикла Ct не более 9. Рост сигнала флуоресценции в ОКО не регистрировался ни по одному из каналов.

Заключение. С помощью биоинформационного анализа нуклеотидных последовательностей различных изолятов *B. abortus* и *B. melitensis*, представленных в базе данных GenBank, обнаружены наиболее перспективные участки для индикации данных патогенов методом ПЦР-РВ, расположенные в следующих позициях: для *B. abortus* – локус «BAW-20082» (GenBank LT671513.1: 1003355 - 1004575), для *B. melitensis* – фрагмент «C0R52_12390» (GenBank CP026006.1: 906042 -906524). Исходя из вариабельности нуклеотидных последовательностей выбранных регионов анализируемых штаммов, сконструированы олигонуклеотидные праймеры и зонды, пригодные для индикации искомым бруцелл методом ПЦР-РВ в одной пробирке, используя разные каналы флуоресценции. В качестве положительного контроля сконструирована генетическая конструкция плазмидной ДНК размером 5433 п.н.

С каждым из разработанных наборов праймеров и зондов, разработанных для одновременной индикации *B. abortus* и *B. melitensis* с использованием сконструированного положительного контроля проведены моно- и мультиплексные реакции. На основании полученных результатов определена программа амплификации и оптимальный состав реакционной ПЦР-РВ смеси. Установлено, что смесь олигонуклеотидных затравок при взаимодействии с используемыми ДНК-маркерами не препятствует накоплению специфических продуктов амплификации.

Для апробации разработанной ПЦР-РВ тест-системы «BRUCELLA RT» использовали штаммы *B. abortus* (№54, №19, №82, УФ-1, Ниви-86), *B. melitensis* (16М, ЯГ-56). При амплификации ДНК данных изолятов наблюдали рост сигнала флуоресценции по двум каналам HEX и CY5 величина порогового цикла Ct не более 18. ПКО по каналам HEX и CY5 с величиной порогового цикла Ct не бо-

лее 9. Рост сигнала флуоресценции в ОКО не регистрировался ни по одному из каналов. Таким образом, нами продемонстрирована работоспособность сконструированной тест-системы и возможность проведения одновременной ПЦР для выявления геномов искомым патогенов.

Финансирование исследования. Работа выполнена за счет гранта, предоставленного Министерством сельского хозяйства и продовольствия Республики Татарстан (Соглашение № 90-2025-013045 от 27.08.2025).

Список источников

1. Разработка мультиплексной ПЦР-РВ тест-системы для выявления возбудителя бруцеллеза / Е. А. Громова, Д. А. Миргазов, Е. А. Додонова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2024. – № 3. – С. 34-40.
2. Генетическая характеристика штаммов *Brucella melitensis*, выделенных на территории Российской Федерации, на основе данных анализа единичных нуклеотидных полиморфизмов при полногеномном секвенировании / И. В. Кузнецова, Д. А. Ковалев, С. В. Писаренко [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2024. – № 1. – С. 154-161.
3. Применение HRM-анализа кривых плавления, полученных после амплификации VNTR-локусов, для идентификации и дифференциации штаммов бруцелл / Е. А. Анисимова, Д. А. Миргазов, Е. А. Додонова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2023. – № 4. – С. 42-49. – doi: 10.21055/0370-1069-2023-4-42-49.
4. *Brucella* genomics: Macro and micro evolution / M. Suárez-Esquivel, E. Chaves-Olarte, E. Moreno, C. Guzmán Verri // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – No. 21(20). – P. 7749. – doi 10.3390/ijms21207749.
5. Применение ПЦР в ранней диагностике бруцеллеза / М. М. Микаилов, О. Ю. Черных, Ш. А. Гуннашев [и др.] // Прикаспийский вестник ветеринарии. – 2025. – № 3(12). – С. 28-33. – DOI 10.33580/29490898_2025_3_12_28.
6. К вопросу дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота / Р. З. Нургазиев, З. С. Кельдибекова, Э. А. Джетигонов [и др.]. // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. – 2023. – № 4(67). – С. 28-35.
7. Эффективность диагностических методов исследования бруцеллеза животных / А. И. Федоров, М. И. Искандаров, С. С. Искандаров [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2020. – № 1. – С. 21-23. – doi: 10.30917/ATTVK-1814-9588-2020-1-5.
8. 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.
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.

References

1. Development of a multiplex PCR-RV test system for detecting the causative agent of brucellosis / E. A. Gromova, D. A. Mirgazov, E. A. Dodonova [et al.] // The Veterinarian. – 2024. – No. 3. – P. 34-40. – doi 10.33632/1998-698X_2024_3_34.
2. Genetic characteristics of *Brucella melitensis* strains isolated in the Russian Federation based on single nucleotide polymorphism analysis data from whole-genome sequencing / I. V. Kuznetsova, D. A. Kovalev, S. V. Pisarenko [et al.] // Problems of Particularly Dangerous Infections. – 2024. – No. 1. – P. 154-161.
3. Use of HRM-Analysis of the Melting Curves Obtained after Amplification of VNTR-Loci for Identification and Differentiation of *Brucella* Strains. / E.A. Anisimova, D.A. Mirgazov, E.A. Dodonova [et al.] // Problems of Particularly Dangerous Infections. – 2023. – No. 4. – P. 42–49. –doi: 10.21055/0370-1069-2023-4-42-49.
4. *Brucella* genomics: Macro and micro evolution / M. Suárez-Esquivel, E. Chaves-Olarte, E. Moreno, C. Guzmán Verri // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – No. 21(20). – P. 7749. – doi: 10.3390/ijms21207749.
5. Application of PCR in the early diagnosis of brucellosis / M. M. Mikailov, O. Yu. Chernykh, Sh. A. Gunashev [et al.] // Prikaspiyskiy Vestnik Veterinari. – 2025. – No. 3(12). – P. 28-33. – doi: 10.33580/29490898_2025_3_12_28.

6. On the issue of differential diagnosis of brucellosis in cattle and small ruminants / R. Z. Nurgaziev, Z. S. Keldibekova, E. A. Dzhetigenov [et al.]. // Bulletin of the Kyrgyz National Agrarian University named after K.I. Skryabin. – 2023. – No. 4(67). – P. 28-35.
7. The effectiveness of diagnostic methods for studying animal brucellosis / A. I. Fedorov, M. I. Iskandarov, S. S. Iskandarov [et al.] // Veterinary Medicine and Feeding. – 2020. – No. 1. – P. 21-23. – doi: 10.30917/ATTVK-1814-9588-2020-1-5.
8. 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.
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.

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 24.02.2026;

© Осянин К. А., Косарев М. А., Горбунова М. Е., Додонова Е. А., Шангараев Р. И., Панкова Е. В., Громова Е. А. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 99 – 105
The Veterinarian. 2026; (2): 99 – 105

Научная статья
УДК 619:578.823.91
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_99

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОМА РОТАВИРУСА ТИПА А У СВИНЕЙ С ПОМОЩЬЮ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Арсений Леонидович Усов ¹, *superultra@list.ru*
Константин Валерьевич Усольцев ², кандидат ветеринарных наук, *ukv3@mail.ru*
Рафкат Искандарович Шангараев ², кандидат ветеринарных наук, *rafkat.shangaraev@mail.ru*
Мария Евгеньевна Горбунова ², кандидат биологических наук, *maria.metax@bk.ru*
Марина Анатольевна Ефимова ^{1, 2}, доктор биологических наук, профессор, *marina-2004r@mail.ru*
Эдие Менечетдинова Плотникова ², доктор ветеринарных наук, *adiya2397031@mail.ru*
Алина Ильфатовна Хамидуллина ², *ha.ilfatovna@gmail.com*

¹ФГБОУ ВО Казанский ГАУ Институт «Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань, Российская Федерация

²Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Арсений Леонидович Усов.

Аннотация. Ротавирусная инфекция – острое вирусное заболевание молодняка сельскохозяйственных и домашних животных, характеризующееся тяжелой диареей, обезвоживанием и высокой летальностью, особенно у телят и поросят в первые дни жизни. Часто заболевание осложняется вторичными бактериальными инфекциями желудочно-кишечного тракта и приводит к развитию иммунодефицитных состояний. Среди свиней циркулируют ротавирусы четырех видов (А, В, С и Н), однако главную роль в патологии кишечника играет ротавирус А (РВА). На сегодняшний день для обнаружения ротавирусов наиболее широко применяются молекулярно-генетические подходы, в частности полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ), позволяющая быстро и точно выявлять РНК-возбудителя в различных биологических и патологических образцах. Целью данной работы являлось разработать способ выявления генома возбудителя ротавируса типа А у свиней с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. По результатам биоинформационного анализа 40 нуклеотидных последовательностей гена VP6 различных изолятов РВА депонированных в базе данных GenBank был определен маркерный локус размером 336 пар нуклеотидов (п.н.), расположенный в области от 821 до 1157 нуклеотидов геномов РВА (обозначение относительно GB ID: OQ799810.1), который характеризовался наименьшим количеством единичных полиформизмов. В пределах указанного выше участка были разработаны две комбинации олигонуклеотидных праймеров - внешние (FP VP6 и RP VP6) и внутренние (FPn VP6 и Rpn VP6) для гнездовой ПЦР-РВ индикации РВА. Экспериментально уставлены оптимальные условия для проведения ПЦР-РВ и состав реакционной смеси. При апробации сконструированных олигонуклеотидов с использованием кДНК изолятов РВА получен ожидаемый результат — рост сигнала флуоресценции по каналу FAM. Таким образом, доказана возможность амплификации участка гена VP6 РВА свиней с использованием заданных праймерных комбинаций, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве основы для разработки ПЦР набора для идентификации РВА.

Ключевые слова: ротавирус, крупный рогатый скот, свиньи, диагностика, полимеразная цепная реакция в реальном времени

Для цитирования: Усов А. Л., Усольцев К. В., Шангараев Р. И., Горбунова М. Е., Ефимова М. А., Плотникова Э. М., Хамидуллина А. И. Идентификация генома ротавируса типа А у свиней с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 99 – 105. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_99

IDENTIFICATION OF THE GENOME OF ROTAVIRUS TYPE A IN PIGS USING REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION

Arseniy L. Usov ¹, *superultra@list.ru*

Konstantin V. Usoltsev ², candidate of veterinary sciences, *ukv3@mail.ru*

Rafkat I. Shangaraev ², candidate of veterinary sciences, *rafkat.shangaraev@mail.ru*

Maria E. Gorbunova ², candidate of biological sciences, *maria.metax@bk.ru*

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

Edie M. Plotnikova ², doctor of veterinary sciences, *adiya2397031@mail.ru*

Alina I. Khamidullina ², *ha.ilfatovna@gmail.com*

¹Kazan Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation

²Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Arseniy Leonidovich Usov.

Abstract. Rotavirus infection is an acute viral disease of young farm and domestic animals characterized by severe diarrhea, dehydration, and high mortality, especially in calves and piglets in the first days of life. The disease is often complicated by secondary bacterial infections of the gastrointestinal tract and leads to the development of immunodeficiency states. Four types of rotaviruses (A, B, C, and H) circulate among pigs, but rotavirus A (RVA) plays a major role in intestinal tract pathology. Today, molecular genetic approaches, particularly real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), are widely used to detect rotaviruses. This method allows for rapid and accurate identification of the RNA pathogen in various biological and pathological samples. The aim of this work was to develop a method for detecting the rotavirus type A genome in pigs using real-time polymerase chain reaction. Based on the results of a bioinformatics analysis of 40 nucleotide sequences of the VP6 gene from various RVA isolates deposited in the GenBank database, a marker locus of 336 nucleotide pairs (nt) was identified in the region from 821 to 1157 nucleotides of the RVA genomes (designated as GB ID: OQ799810.1), which had the lowest number of single polymorphisms. Within the above-mentioned area, two combinations of oligonucleotide primers were developed: external (FP VP6 and RP VP6) and internal (FPn VP6 and RPn VP6) for nested PCR-RV detection of RVA. The optimal conditions for PCR-RV and the composition of the reaction mixture were experimentally determined. When the constructed oligonucleotides were tested using the cDNA of RVA isolates, the expected result was obtained — an increase in the fluorescence signal in the FAM channel. Thus, the possibility of amplifying the VP6 gene region of RVA in pigs using the specified primer combinations has been proven, which can be further used as a basis for developing a PCR kit for RVA identification.

Keywords: rotavirus, cattle, pigs, diagnostics, real-time polymerase chain reaction

Введение. Ротавирусы поражают широкий спектр видов животных, вызывая патологические изменения в желудочно-кишечном тракте (профузный понос, обезвоживание организма, развитие катарального или катарально-геморрагического гастроэнтерита). В большинстве случаев инфицирование данными патогенами характерно для молодняка крупного рогатого скота и поросят. Патологический процесс часто осложняется действием вторичной микрофлоры. В первые дни жизни телёнка ротавирусы имеют особое значение как причина энтеритов. Ротавирусные инфекции способствуют угнетению иммунной системы, что повышает риск развития вторичных инфекций и увеличивает показатели заболеваемости и смертности молодняка, нанося значительный экономический ущерб хозяйству [1].

Возбудителями ротавирусных инфекций являются РНК-содержащие вирусы, относящиеся к порядку *Reovirales*, семейству *Sedoreoviridae*, роду *Rotavirus*. Геном ротавируса представлен двухцепочечной линейной молекулой РНК, разделенной на 11 сегментов, которые кодируют 6 структурных (VP1-4, VP6, VP7) и от 5 до 6 неструктурных белков (NSP1-5/6).

На основании изучения изменчивости нуклеотидной последовательности 6-го сегмента, кодирующего ген капсидного белка (VP6), выделяют 9 видов ротавирусов: А, В, С, D, F, G, H, I и J. Следует отметить, что изоляты вируса относят к различным видам при пороговом значении идентичности нуклеотидной последовательности 53 %.

Среди свиней циркулируют ротавирусы четырех видов (А, В, С и H), однако главную роль в патологии кишечного тракта играет ротавирус А (РВА) [2]. Также РВА поражает другие виды млекопитающих (например, человека, крупный рогатый скот, лошадей, крыс, летучих мышей), у которых

он вызывает гастроэнтериты и диарею, и птиц (например, кур, индеек и голубей), вызывая кишечные инфекции и синдром задержки роста и развития.

Больные поросята служат основным резервуаром возбудителя, выделяя его в окружающую среду с фекалиями в 1 г которых содержится $10^7 - 10^{10}$ вирусных частиц. Установлено, что для заражения безмолозивных поросят достаточно всего 90 вирусных частиц, причем передача происходит фекально-оральным путем [3, 4]. Таким образом информативность методов диагностики, направленных на раннее выявление вируса или вирусных антигенов у больных животных, — ключевой момент для постановки точного диагноза и своевременного начала лечения.

Как и при других инфекционных заболеваниях, диагностика ротавирусной инфекции включает клинические методы, лабораторные анализы и экспресс-тесты, однако окончательный диагноз ставится только на основании лабораторного подтверждения [5, 6]. Это связано с тем, что наблюдаемые клинические проявления и изменения, выявляемые при вскрытии, неспецифичны и могут быть идентичны тем, что возникают при других заболеваниях желудочно-кишечного тракта, вызванных различными инфекционными агентами.

На сегодняшний день для обнаружения ротавирусов наиболее широко применяются молекулярно-генетические подходы, в частности полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ), позволяющая быстро и точно выявлять РНК-возбудителя в различных биологических и патологических образцах. К тому же использование мультиплексных ПЦР-тестов позволяют тестировать образец на наличие нескольких возбудителей кишечных инфекций.

Целью настоящей работы являлось разработать способ выявления генома возбудителя ротавируса типа А у свиней с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Материалы и методы. Объекты исследования – нуклеотидные последовательности изолятов РВА, представленные в базе данных GenBank. Множественное выравнивание нуклеиновых последовательностей РВА проводили с помощью программы «MEGA 11». Конструирование праймеров выполняли с помощью программы Vector NTI 9.1., в соответствии с общими принципами, которые ранее описывали для изучения других инфекций [7]. Степень идентичности и покрытия разработанных праймеров к гомологичным референтным нуклеотидным последовательностям ротавирусов типа А определяли с помощью онлайн утилиты BLASTn [8]. Разработанные олигонуклеотидные затравки синтезировали в ЗАО «Евроген» (Москва).

Для апробации сконструированных олигонуклеотидов использовали образцы РНК РВА, полученные нами ранее из патологического материала от павших поросят – ткань кишечника ($n = 3$), ткань легких ($n = 3$), ткань селезенки ($n = 2$) [9]. Выделение штаммов вируса проводили с использованием перевиваемой линии клеток РК-15 (почки свиньи) согласно методике, описанной в предыдущей работе [9].

Для выделения РНК использовали комплект реагентов «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Постановку ОТ-ПЦР-РВ проводили на амплификаторе CFX96 с использованием реагентов производства ЗАО «Евроген» (Россия) – «5X qPCRmix-HS SYBR» и «Обратная транскриптаза MMLV».

Результаты исследований и их обсуждение. На сегодняшний день РВА является самым изученным видом, что обусловлено его повсеместным распространением во многих странах мира, обширным спектром восприимчивых видов и негативным воздействием на организм хозяина.

Согласно данным литературы, для диагностики РВА используют белок VP6, поскольку он является группоспецифическим антигеном ротавируса [10, 11]. В настоящей работе для разработки способа выявления генома возбудителя РВА у свиней был выбран метод гнездовой ПЦР с детекцией результатов продуктов амплификации на втором этапе ПЦР. Данный метод за счет использования двух пар праймеров (первая пара – внешние и вторая пара – внутренние), которые добавляют на двух последовательных этапах реакции, обладает высокой чувствительностью и специфичностью аналитической реакции.

Анализ варибельности нуклеотидных последовательностей гена VP6 различных изолятов РВА производили посредством программы MEGA 11 относительно их геномов, депонированных в базе данных GenBank под следующими номерами: LC776480.1, LC777964.1, LC777980.1, OQ799766, OQ799767.1, OQ799768.1, OQ799769.1, OQ799770.1, OQ799771.1, OQ799777.1, OQ799784.1, OQ799786.1, OQ799787.1, OQ799795.1, OQ799796.1, OQ799797.1, OQ799809.1, OQ799810.1, OQ799815.1, OQ799819.1, OQ799820.1, OQ799823.1, OQ799830.1, OQ799830.1, OQ799832.1, OQ799834.1, OQ799935.1, OQ799838.1, OQ799839.1, OQ799847.1, OQ799852.1, OQ799854.1, OQ799856.1, OQ799862.1, OQ799864.1, OQ799872.1, OQ799873.1, OQ799874.1, OQ799878.1, OR683293.1

По результатам множественного выравнивания был определен маркерный локус размером 336 пар нуклеотидов (п.н.), расположенный в области от 821 до 1157 нуклеотидов геномов РВА (обозначение относительно GB ID: OQ799810.1 Rotavirus A isolate CHN/HN/MY/2022/G9P1315 VP6 gene complete cds (целевая нуклеотидная последовательность), который характеризовался наименьшим количеством единичных полиморфизмов.

В пределах указанного выше участка были разработаны две комбинации олигонуклеотидных праймеров - внешние (FP VP6 и RP VP6) и внутренние (FPn VP6 и RPn VP6) (рисунок 1, 2, таблица 1).

Рисунок 1 – Сравнение нуклеотидных последовательностей маркерного локуса белка VP6 различных изолятов РВА (интерфейс программы MEGA 11)

FP VP6

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	Δ
1. LC776480.1 Porcine rotavi	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
2. LC777964.1 MAG. Porcine	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
3. LC777980.1 MAG. Porcine	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
4. OQ799766.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
5. OQ799767.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
6. OQ799768.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
7. OQ799769.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
8. OQ799770.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
9. OQ799771.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
10. OQ799772.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
11. OQ799773.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
12. OQ799774.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
13. OQ799775.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
14. OQ799776.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
15. OQ799777.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
16. OQ799778.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
17. OQ799779.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
18. OQ799780.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
19. OQ799781.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
20. OQ799782.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
21. OQ799783.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
22. OQ799784.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
23. OQ799785.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
24. OQ799786.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
25. OQ799787.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
26. OQ799788.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
27. OQ799789.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
28. OQ799790.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
29. OQ799791.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
30. OQ799792.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
31. OQ799793.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
32. OQ799794.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
33. OQ799795.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
34. OQ799796.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
35. OQ799797.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
36. OQ799798.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
37. OQ799799.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
38. OQ799800.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG
39. OQ799801.1 Rotavirus A	AAGCGGATTTGGAACTATCATAGCG

RP VP6

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	Δ
1. LC776480.1 Porcine rotavi	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
2. LC777964.1 MAG. Porcine	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
3. LC777980.1 MAG. Porcine	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
4. OQ799766.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
5. OQ799767.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
6. OQ799768.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
7. OQ799769.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
8. OQ799770.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
9. OQ799771.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
10. OQ799772.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
11. OQ799773.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
12. OQ799774.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
13. OQ799775.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
14. OQ799776.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
15. OQ799777.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
16. OQ799778.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
17. OQ799779.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
18. OQ799780.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
19. OQ799781.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
20. OQ799782.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
21. OQ799783.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
22. OQ799784.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
23. OQ799785.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
24. OQ799786.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
25. OQ799787.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
26. OQ799788.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
27. OQ799789.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
28. OQ799790.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
29. OQ799791.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
30. OQ799792.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
31. OQ799793.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
32. OQ799794.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
33. OQ799795.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
34. OQ799796.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
35. OQ799797.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
36. OQ799798.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
37. OQ799799.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
38. OQ799800.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT
39. OQ799801.1 Rotavirus A	TCAGAGAGATCTTGCACGCGTTT

FPn VP6

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	Δ
1. LC776480.1 Porcine rotavi	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
2. LC777964.1 MAG. Porcine	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
3. LC777980.1 MAG. Porcine	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
4. OQ799766.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
5. OQ799767.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
6. OQ799768.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
7. OQ799769.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
8. OQ799770.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
9. OQ799771.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
10. OQ799772.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
11. OQ799773.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
12. OQ799774.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
13. OQ799775.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
14. OQ799776.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
15. OQ799777.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
16. OQ799778.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
17. OQ799779.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
18. OQ799780.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
19. OQ799781.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
20. OQ799782.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
21. OQ799783.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
22. OQ799784.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
23. OQ799785.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
24. OQ799786.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
25. OQ799787.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
26. OQ799788.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
27. OQ799789.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
28. OQ799790.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
29. OQ799791.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
30. OQ799792.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
31. OQ799793.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
32. OQ799794.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
33. OQ799795.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
34. OQ799796.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
35. OQ799797.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
36. OQ799798.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
37. OQ799799.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
38. OQ799800.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC
39. OQ799801.1 Rotavirus A	CCGCAAGCACCACCATTTATATTC

RPn VP6

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrev	Δ
1. LC776480.1 Porcine rotavi	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
2. LC777964.1 MAG. Porcine	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
3. LC777980.1 MAG. Porcine	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
4. OQ799766.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
5. OQ799767.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
6. OQ799768.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
7. OQ799769.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
8. OQ799770.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
9. OQ799771.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
10. OQ799772.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
11. OQ799773.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
12. OQ799774.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
13. OQ799775.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
14. OQ799776.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
15. OQ799777.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
16. OQ799778.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
17. OQ799779.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
18. OQ799780.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
19. OQ799781.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
20. OQ799782.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
21. OQ799783.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
22. OQ799784.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
23. OQ799785.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
24. OQ799786.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
25. OQ799787.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
26. OQ799788.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
27. OQ799789.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
28. OQ799790.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
29. OQ799791.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
30. OQ799792.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
31. OQ799793.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
32. OQ799794.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
33. OQ799795.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
34. OQ799796.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
35. OQ799797.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
36. OQ799798.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
37. OQ799799.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
38. OQ799800.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT
39. OQ799801.1 Rotavirus A	TCGCAATCCAGTAGGACCAAGT

Рисунок 2 - Расположение двух комбинаций олигонуклеотидных праймеров для индикации гена VP6 РВА свиней (обозначение относительно GB ID: OQ799810.1)

FP VP6 100.0%	
801	ACAGATAATT AATACGTATC AAGCAGGATT TGGAACTATC ATAGCTAGAA ATTTTGACAC CATTCGTTTA TCAATTCAT TACTACGCC ACCAAATATG
	TGCTATATTA TTATGCTATG TTCGTGCTAA ACCTTGATAG TATGATCTT TAAACTGTG GTAAGCAAT AGTAAAGTTA ATCATCGAG TGGTTTATAC
FPn VP6 100.0%	
901	ACACCAAGCTG TTGCGAACTT ATTTCCGCRA GCACCAACAT TTATATTTCA TGCTACAGTT GGACTTACAT TACGGATTGA ATCTCGAGTT TGTGAATCTG
	TGTGTCGAG AACGCTTGAA TAAAGGCGTT CGTGGTGGTA AATATAAAGT CCGTAATGTA ATGCTTAATC TAGACGTCAA ACATTAGAC
RP VP6 100.0%	
1001	TGCTTGGCGA TGCCTCAGAA ACATTATTGG CAATATGTAAC AGCAGTTCTG CAGAATATAG CCATCCCGAG AGGACCACTA TTCCACCGGG GTATGAATTG
	ACGAACGCCG TGTAAATCTT TGTAAATAAC GTTATCAATTG TCGTCAAGCA GTTCTTATAC GGTAGGGTCA TCTGTGTCAT AAAGTGGGCC CATACTTAAC
RPn VP6 100.0%	
1101	GACAGAATTG ATTACCAATT ATTCACCTTC AAGAGAAGAT AACCTACAGC GTGTTTTCAC AGTAGCTTCC ATTAGAAGCA TGTGTATTAA GTGA
	CTGCTTAAAC TAATGGTTAA TAAGTGGAG TTCTCTTCTA TTGGATGTCG CACAAAAGTG TCATCGAAGG TAATCTTCTG ACACTAATT CACT

Таблица 1 – Характеристика сконструированных олигонуклеотидных праймеров

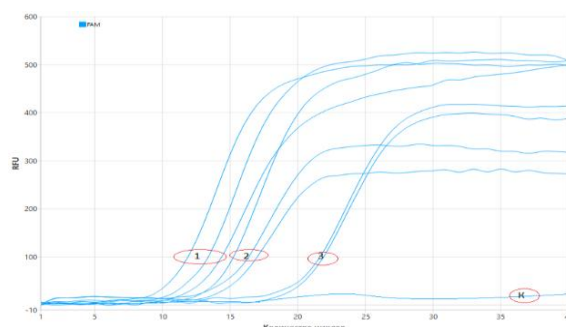
Наименование	Мишень	Позиция в целевой последовательности, п.н.	Размер праймера (п.н.)	Температура отжига, °C
FP VP6				55,0
RP VP6				54,7
FPn VP6				55,0
RPn VP6				55,7

Как видно из таблицы 1 внешние и внутренние праймеры, фланкирующие участок гена VP6 имели следующие характеристики: FP VP6 расположен в позиции от 926 до 948 п.н. (обозначения относительно GenBank ID: OQ799810.1), температура плавления 55,0 °C; RP VP6 имеет локализацию в участке от 1059 до 1079 п.н, температура плавления равна 54,7 °C; FPn VP6 расположен в позиции от 821 до 845 п.н, температура плавления – 55,0 °C, RPn VP6 находится в позиции от 1131 до 1157 п.н, температура плавления – 55,7 °C.

С помощью онлайн утилиты BLASTn установлено, что все сконструированные праймеры характеризовались 100 % гомологией к большинству депонированных в базе данных GenBank нуклеотидным последовательностям гена белка VP6 различных изолятов РВА.

Для разработки и оптимизации протокола ПЦР-РВ после синтеза комбинации олигонуклеотидных затравок провели серию экспериментов с использованием образцов кДНК ротавируса, полученных нами ранее из патологического материала от павших поросят – ткань кишечника (n = 3), ткань легких (n = 3), ткань селезенки (n = 2). По результатам полученных данных была разработана следующая программа для ОТ-ПЦР-РВ: 1 раунд (наружные праймеры FP VP6 и RP VP6) - обратная транскрипция 37 °C – 60 мин, начальная денатурация ДНК при 95 °C в течение 5 мин, далее 35 циклов: денатурация при температуре 94 °C – 30 с, отжиг олигонуклеотидов: при 55 °C – 30 с, элонгация: при 72 °C – 30 с; 2 раунд (внутренние праймеры FPn VP6 и RPn VP6) - обратная транскрипция 37 °C – 60 мин, начальная денатурация ДНК при 95 °C в течение 5 мин, далее 40 циклов: денатурация при температуре 94 °C – 30 с, отжиг олигонуклеотидов: при 55,4 °C – 30 с (детекция по каналу FAM), элонгация: при 72 °C – 30 с. Состав реакционной ОТ-ПЦР-РВ смесь на одну реакцию был следующий: qPCRMix-HS SYBR (АО «Евроген») – 5 мкл, 100 pM каждого раствора прямого и обратного праймера – 0,1 мкл, 0,5 мкл – раствора обратной транскриптазы MMLVA (АО «Евроген»), деионизированная вода – 14,3 мкл). Матрица РНК/ ДНК – 5 мкл. Общий объем реакционной смеси – 25 мкл. Для первого раунда матрицей служила выделенная из образцов РНК, для второго раунда – продукты первого раунда ПЦР (ДНК). Результаты ПЦР-анализа по индикации генома РВА представлены на рисунке 3.

Рисунок 3 – Результаты ПЦР-анализа по индикации генома РВА: 1 – образцы из кишечника, 2 – образцы из легочной ткани; 3 – образцы из селезенки; К - отрицательный контрольный образец



При амплификации кДНК изолятов РВА с разработанными праймерами получен ожидаемый результат – рост сигнала флуоресценции по каналу FAM.

Заключение. По результатам множественного выравнивания 40 нуклеотидных последовательностей гена VP6 различных изолятов РВА депонированных в базе данных GenBank был определен маркерный locus размером 336 пар нуклеотидов (п.н.), расположенный в области от 821 до 1157 нуклеотидов геномов РВА (обозначение относительно GB ID: OQ799810.1 Rotavirus A isolate CHN/HN/MY/2022/G9P13I5 VP6 gene complete cds (целевая нуклеотидная последовательность), который характеризовался наименьшим количеством единичных полиформизмов. В пределах указанного выше участка были разработаны две комбинации олигонуклеотидных праймеров - внешние (FP VP6

и RP VP6) и внутренние (FPr VP6 и RPr VP6) для гнездовой ПЦР-РВ индикации опасной болезни свиней – ротавируса типа А. Экспериментально уставлены оптимальные условия для проведения ПЦР-РВ и состав реакционной смеси. При апробации сконструированных олигонуклеотидов с использованием кДНК изолятов РВА был получен ожидаемый результат — рост сигнала флуоресценции по каналу FAM. Таким образом, доказана возможность амплификации участка гена VP6 РВА свиней с использованием заданных праймерных комбинаций, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве основы для разработки ПЦР набора для идентификации РВА. На следующем этапе исследований планируется определение диагностической специфичности разработанных праймеров с представителями ротавируса свиней типа В, С и Н.

Список источников

1. Complete genome characterization by nanopore sequencing of rotaviruses A, B, and C circulating on large-scale pig farms in Russia / N. Krasnikov, A. Gulyukin, T. Aliper, A. Yuzhakov // *Virology Journal*. – 2024. – Vol. 21, No. 1.
2. Ротавирусы свиней / Б. Г. Орлянкин, А. Г. Южаков, Н. Ю. Красников, Т. И. Алипер // *Ветеринария*. – 2023. – № 7. – С. 3-10. – doi 10.30896/0042-4846.2023.26.7.03-09.
3. Ротавирусная болезнь свиней. Актуальные инфекционные болезни свиней / Б. Г. Орлянкин, Е. А. Непоклонов, К. П. Алексеев; под ред. проф. Т. И. Алипера — М.: Зооветкнига, 2019. — 260 – 262.
4. Reoviruses (Rotaviruses and Reoviruses). Diseases of Swine / F.K. Shepherd, M. Freeman, M. R. Culhane [et all.] // *Diseases of Swine*. – 2019. P. 715-727.
5. 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
6. Изыскание генетических маркеров для ПЦР-РВ индикации возбудителя вирусной геморрагической септицемии рыб / Е. А. Громова, Д. А. Миргазов, Е. А. Додонова [и др.] // *Международный вестник ветеринарии*. – 2025. – № 2. – С. 30-38. – doi 10.52419/issn2072-2419.2025.2.30.
7. Дизайн специфических олигонуклеотидов для выявления контаминации культур клеток возбудителем вирусной диареи и микоплазмами при разработке интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят / Н. И. Хаммадов, М. Е. Горбунова, М. А. Ефимова [и др.] // *Ветеринарный врач*. – 2025. – № 3. – С. 98-104. – doi 10.33632/1998-698X_2025_3_98.
8. Онлайн-утилиты BLASTn (Интернет ресурс, URL: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome, дата обращения: 10.02.2026 г.)
9. Отбор высокоиммуногенных штаммов ротавируса свиней, выделенных из тканей пораженных животных / Э. М. Плотникова, И. Р. Мухаметшин, М. М. Шакуров [и др.] // *Ученые записки Казанской академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*. – 2025. – Т. 264, № 4. – С. 71-76. – doi 10.31588/2413_4201_1883_4_264_71
10. Использование вирусоподобных частиц на основе рекомбинантных вирусных белков VP2/VP6 ротавируса А для оценки гуморального иммунного ответа методом ИФА / И. Е. Филатов, В. В. Цибезов, М. В. Баландина [и др.] // *Вопросы вирусологии*. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 161-171. – doi 10.36233/0507-4088-169.
11. Detection and genotyping of Korean porcine rotaviruses / H. J. Kim, S. Ik Park, T. Phuong Mai Ha [et all.] // *Veterinary Microbiology*. – 2010. – Vol. 144. – P. 274-286. doi 10.1016/j.vetmic.2010.01.019.

References

1. Complete genome characterization by nanopore sequencing of rotaviruses A, B, and C circulating on large-scale pig farms in Russia / N. Krasnikov, A. Gulyukin, T. Aliper, A. Yuzhakov // *Virology Journal*. – 2024. – Vol. 21, No. 1.
2. Rotaviruses of Pigs / B. G. Orlyankin, A. G. Yuzhakov, N. Yu. Krasnikov, T. I. Aliper // *Veterinariya*. – 2023. – No. 7. – Pp. 3-10. – doi 10.30896/0042-4846.2023.26.7.03-09.
3. Rotavirus Disease of Pigs. Current Infectious Diseases of Pigs / B. G. Orlyankin, E. A. Nepoklonov, K. P. Alekseev; edited by Prof. T. I. Aliper – Moscow: Zootekhbook, 2019. – 260–262.
4. Reoviruses (Rotaviruses and Reoviruses). Diseases of Swine / F.K. Shepherd, M. Freeman, M. R. Culhane [et all.] // *Diseases of Swine*. – 2019. P. 715-727.

5. 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/
6. Search for genetic markers for PCR-RV indication of the causative agent of viral hemorrhagic septicemia in fish / E. A. Gromova, D. A. Mirgazov, E. A. Dodonova [et al.] // *International Bulletin of Veterinary Medicine*. – 2025. – No. 2. – P. 30-38. – doi 10.52419/issn2072-2419.2025.2.30.
7. Design of specific oligonucleotides to detect contamination of cell cultures by the causative agent of viral diarrhea and mycoplasmas in the development of an intranasal vaccine against respiratory diseases / N. I. Khammadox, M. E. Gorbunova, M. A. Efimova [et al.] // *The Veterinarian*. – 2025. – No. 3. – P. 98-104. – doi 10.33632/1998-698X_2025_3_98.
8. Online utility BLASTn (Internet resource, URL: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome, accessed on 10.02.2026)
9. Selection of highly immunogenic strains of porcine rotavirus isolated from tissues of affected animals / E. M. Plotnikova, I. R. Mukhametshin, M. M. Shakurov [et al.] // *Scientific Notes of the N.E. Bauman Kazan Academy of Veterinary Medicine*. – 2025. – Vol. 264, No. 4. – P. 71-76. – doi 10.31588/2413_4201_1883_4_264_71
10. The use of virus-like particles based on recombinant viral proteins VP2/VP6 of rotavirus A to assess the humoral immune response by ELISA / I. E. Filatov, V. V. Tsibezov, M. V. Balandina [et al.] // *Questions of virology*. – 2023. – Vol. 68, No. 2. – P. 161-171. – doi 10.36233/0507-4088-169.
11. Detection and genotyping of Korean porcine rotaviruses / H. J. Kim, S. Ik Park, T. Phuong Mai Ha [et al.] // *Veterinary Microbiology*. – 2010. – Vol. 144. – P. 274-286. doi 10.1016/j.vetmic.2010.01.019.

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 18.02.2026;

© Усов А. Л., Усольцев К. В., Шангараев Р. И., Горбунова М. Е., Ефимова М. А., Плотникова Э. М., Хамидуллина А. И. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 106 – 112
The Veterinarian. 2026; (2): 106 – 112

Научная статья
УДК 619:616.995.57
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_106

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ИНВАЗИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ КРОЛИКОВ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Надежда Сергеевна Беспалова, доктор ветеринарных наук, профессор,
nadezh.bespalova2014@yandex.ru

Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж,
Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Надежда Сергеевна Беспалова.

Аннотация. Анализ научной литературы за последние 10 лет показал, что в разных регионах страны регистрируются в основном три инвазионные болезни кроликов. Доминирующее положение занимает эймериоз. Инвазия встречается во все сезоны года с явно выраженным эпизоотическим подъемом в осенне-зимний период. Высокий уровень экстенсивности инвазии характерен для кроликов в возрасте 3-5 месяцев и может достигать 100% в личных подсобных и крестьянско-фермерских хозяйствах с высоким уровнем смертности. Второе место занимает пассалуроз. Авторы указывают на 80-100% экстенсивность инвазии этим гельминтозом при содержании кроликов в частных подворьях. Пассалуроз регистрируется в большей степени у животных 3-7 месячного возраста с подъемом заболеваемости в осенне-зимний период до 67% и более и спадом в весенне-летний до 10%. Кроме пассалуроза у кроликов и зайцев регистрируется цистицеркоз пизиформный- ларвальная стадия цестоды *Taenia pisiformis*. Этот вид цистицерков обнаруживают на сальнике, серозных оболочках органов брюшной полости. Экстенсивность инвазии варьируется от 25 до 96%, интенсивность инвазии- более 600 экз. цистицерков у животного. На третьем месте - псороптоз. Несмотря на повсеместное распространение этого акариоза, научных источников по вопросам региональной эпизоотологии очень мало. Псороптоз чаще регистрировали у крольчих, они являются источником заражения молодняка. Клинические проявления болезни наблюдаются у 1,5 – 2-х месячных крольчат. Экстенсивность инвазии в отдельных частных хозяйствах достигает 56%. Из акариозов отмечены единичные случаи хейлетиеллеза с экстенсивностью инвазии 77% и интенсивностью – более 100 экз. на животное. Взрослые животные без видимых клинических проявлений любых инвазий, являются носителями и источником заражения молодняка, что имеет важное значение в эпизоотологии этих болезней.

Ключевые слова: эпизоотическая ситуация, инвазионные болезни, кролики, протозоозы, эймериоз, акариозы, псороптоз, гельминтозы, пассалуроз, сезонная динамика, возрастная динамика, Российская Федерация

Для цитирования: Беспалова Н. С. Эпизоотическая ситуация по инвазионным болезням кроликов на территории Российской Федерации // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 106 – 112. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_106

THE EPIZOOTIC SITUATION OF INVASIVE RABBIT DISEASES IN THE RUSSIAN FEDERATION

Nadezhda S. Bespalova, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, *nadezh.bespalova2014@yandex.ru*

Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russian Federation

Corresponding author: Nadezhda Sergeevna Bespalova.

Abstract. An analysis of the scientific literature over the past 10 years has shown that mainly three invasive rabbit diseases are registered in different regions of the country. Eimeriosis occupies a dominant position. The invasion occurs in all seasons of the year with pronounced epizootic outbreaks in the autumn-

winter period. A high level of invasion is typical for rabbits aged 3-5 months and can reach 100% in private subsidiary and peasant farms with a high mortality rate. The second place is occupied by passalurosis. The authors point to an 80-100% prevalence of invasion by this helminthiasis when rabbits are kept in private farmsteads. Passalurosis is recorded to a greater extent in animals aged 3-7 months, with an increase in incidence in autumn and winter to 67% or more and a decrease in spring and summer to 10%. In addition to passalurosis, cysticercosis pisiformis, the larval stage of the cestode *Taenia pisiformis*, is recorded in rabbits and hares. This type of cysticerci is found on the omentum, the serous membranes of the abdominal organs. The extent of invasion varies from 25 to 96%, the intensity of invasion is more than 600 specimens. cysticerci in an animal. Psoroptosis is in third place. Despite the widespread occurrence of this acariasis, there are very few scientific sources on regional epizootology. Psoroptosis was more often recorded in rabbits, they are a source of infection of young animals. Clinical manifestations of the disease are observed in 1.5 – 2 month old baby rabbits. The prevalence of invasion in individual private farms reaches 56%. Isolated cases of cheilietellosis with an invasion rate of 77% and an intensity of more than 100 specimens were noted from acariasis. on an animal. Adult animals without visible clinical manifestations of any invasions are carriers and a source of infection of young animals, which is important in the epizootology of these diseases.

Keywords: epizootic situation, invasive diseases, rabbits, protozoa, eimeriosis, acariasis, psoroptosis, helminthiasis, seasonal dynamics, age dynamics, Russian Federation

Введение. Кролиководство очень перспективная, но недостаточно развитая отрасль сельского хозяйства в нашей стране. Балакирев Н.А. (2023) [1, с. 3] указывает, что за год от одной пары кроликов можно получить многочисленное потомство, которое в результате даст до 100 кг легко усваиваемого, сбалансированного по питательным веществам мяса и не дорогое, качественное, разнообразное меховое сырье. В разные годы отрасль испытывала подъемы и спады, но в настоящее время вновь начинает возрождаться. Автор обращает внимание, что в Российской Федерации имеются все необходимые условия для интенсивного развития кролиководства на основе применения современных научных технологий содержания, кормления и разведения с целью улучшения генетического потенциала поголовья. Крупных предприятий по выращиванию кроликов на промышленной основе немного, основное поголовье сосредоточено в мелких крестьянско-фермерских и индивидуальных подсобных хозяйствах. Разведение этих животных не требует больших материальных затрат, специальных навыков, сложного оборудования, а применяемые традиционные методы содержания легко осваиваются кроликоведами-любителями. Но в крестьянско-фермерских и индивидуальных хозяйствах зачастую не уделяется должного внимания ветеринарно-зоогигиеническим требованиям к разведению и содержанию кроликов, что приводит к возникновению и распространению среди поголовья болезней инвазионной этиологии, резкому снижению продуктивности, гибели молодняка и паразитоносительству у взрослого поголовья. Кроме хозяйственного назначения, кроликов широко используют как биологическую модель в научных исследованиях разных отраслей, а также декоративные породы этих животных являются домашними питомцами (Жуков А.П., 2021) [2, с.151].

Одной из серьезных проблем развития кролиководства, после инфекционной патологии, являются инвазионные болезни. Злобин А.В. с соавт. (2024) [3,с.23] подчеркивает, что на территории Удмуртской республики одной из основных задач успешного развития звероводческих хозяйств является сохранение эпизоотического благополучия. Эпизоотический риск создает, прежде всего, высокая концентрация поголовья животных на относительно небольшой площади территории. Инвазионные и инфекционные болезни нередко протекают в ассоциированной форме с несколькими возбудителями. В кролиководческих хозяйствах и на частных подворьях такие заболевания являются одним из факторов, вызывающих ослабление иммунитета у кроликов, что может стать причиной гибели животных не только от паразитарных болезней, но и от сопутствующих бактериальных и вирусных.

Целью нашей работы было провести анализ актуальной научной литературы и ознакомиться с эпизоотической ситуацией по инвазионным болезням кроликов, которые наиболее часто регистрируются на территории Российской Федерации.

Материалы и методы. Проведен оперативный анализ публикаций, размещенных в ведущих наукометрических базах Российской Федерации в которых представлены результаты исследований распространения и особенностей эпизоотологии паразитозов кроликов в разных географических зонах нашей страны с целью определения уровня изученности данного вопроса.

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ научной литературы показал, что большинство работ посвящено изучению эймериоза кроликов, как преобладающего инвазионного заболевания с высоким процентом гибели молодняка. Черных О.Ю. с соавт. (2019) [4, с.9, 11] указывает, что в регионе Северного Кавказа в нозологическом профиле паразитарной патологии у кроликов и пуш-

ных зверей доминируют эймериоз с ЭИ более 65% и пассалуроз кроликов с ЭИ превышающей 54%. Бурганова Э. Р. с соавт. (2023) [5, с.179-183] отмечает распространение эймериоза кроликов в условиях стационара по уходу за животными Красноярского ГАУ. По данным Цепиловой И.И. с соавт. (2023) [6, с.15-18] в хозяйствах и вивариях Московской области эймериоз диагностирован у 27-100% поголовья кроликов с низкой интенсивностью инвазии (не более 632 ооцист эймерий в 1 г фекалий) без проявления клинических признаков, что характерно для паразитоносительства. В процентном отношении доминирующим видом был возбудитель *E. perforans*, который встречался в 37% случаев, 24-21% приходилось на виды *E. media* и *E. magna* соответственно, в 14% случаев обнаруживали *E. stiedae* и очень редко *E. intestinalis*, не более 4% случаев. В индивидуальных фермерских и личных подсобных хозяйствах экстенсивность инвазии (ЭИ) эймериозом крольчат 2-5 мес., самцов и самок старше 2-х лет достигала 100%. В вивариях разных организаций Московской области ЭИ у животных старше 2-х лет варьировалась от 18 до 70%. Автор также указывает на наличие пассалурозной инвазии у обследованных животных частного сектора. Установлена 100% ЭИ у кроликов в возрасте от 2-х мес. и старше. Алимсеитова А. И., Лукьянов Р. Ю. (2023) [7, с.61-63] по результатам обследования кроликов, содержащихся в частных подворьях Республики Крым приводят данные, что эймериоз регистрируется у всех возрастных групп кроликов во все сезоны года. Подъем заболеваемости зарегистрирован в летне-осенний период с дальнейшим снижением в осенне-зимний. ЭИ эймериозом достигает в период эпизоотического пика 100%. Ооцисты кокцидий были выявлены у молодняка месячного возраста более 200 экз. в грамме фекалий на животное. С увеличением возраста показатели ЭИ и ИИ снижаются и у взрослых животных не превышают 10% и 27 экз. ооцист в осенне-зимний период. Пассалуроз регистрировали, также круглогодично. В группе от 3-х до 6-ти мес. ЭИ превышала 67%, ИИ- от 20 до 40 яиц в грамме фекалий. Эпизоотический подъем инвазии отмечен в осенне-зимний период в разных возрастных группах. Авторы указывают, что часто встречаются ассоциированные инвазии эймериозом и пассалурозом. Одной из основных причин распространения эймериоза является скученное содержание молодняка, несоблюдение зоогигиенических параметров микроклимата в крольчатниках. Чаще всего это повышенная влажность, резкие перепады температур, формирование групп животных без учета их возраста и веса. Подъему заболеваемости в осенне-зимний период способствует несбалансированное кормление, что приводит к снижению резистентности организма и повышенной восприимчивости к возбудителям инвазионных болезней. Любченко Д.А. с соавт. (2023) [8, с.36] считает, что наряду с плохими условиями содержания, загрязненными фекалиями кормов и воды, интенсивному размножению эймерий в кишечнике кроликов способствует длительное кормление высокобелковыми рационами с содержанием белка более 10% кормовых единиц.

Вторым по распространению и эпизоотической значимости паразитозом кроликов является пассалуроз. Гельминтоз имеет широкое распространение на территории всей Российской Федерации. По информации О. В. Васильева с соавт. (2021) [9, с. 162], доминирующими у кроликов гельминтами из класса нематод являются *Passalurus ambiguus*, которые локализуются в слепых отростках и толстом кишечнике кроликов. По результатам гельминтооувоскопии методами Фюллеборна и Дарлинга авторы выявили яйца гельминта. Интенсивность инвазии была низкой от 1 до 12 экз. яиц на животное. Экстенсивность инвазии составила 100%. Кроме яиц пассалурозов встречались ооцисты *Eimeria perforans*, что свидетельствует о коинфекции. Интенсивность инвазии эймериозом составила 57 экз., Экстенсивность инвазии - 20 %. Акбаев Р. М. с соавт. (2024) [10] на основании проведенных гельминтологических исследований кроликов из частных подворий Московской и Тульской областей, делает вывод, что ЭИ пассалурозом превышает 72%. Акбаев Р.М. с соавт. (2025) [11, с. 23-26] в своих исследованиях установил, что пассалуроз широко распространен в частных подворьях на территории Владимирской области. ЭИ превышает 46%, но в отдельных подворьях достигает 80-100%. Автор обращает внимание на использование в случке животных зараженных пассалурозом, не имеющих выраженных клинических признаков, не исследованных предварительно на пассалуроз и не дегельминтизированных до случки. Верещенко А.С. и Павлов С.А. (2020) [12, с.84] сообщают, что на территории Иркутской области пассалуроз кроликов является серьезной проблемой. Высокий уровень зараженности и гибель до 100% установлены у кроликов 3-7 месячного возраста. Инвазия регистрируется в течение всего года с подъемом в зимне-весенний период. Авторы отмечают, что попавшие на окружающие предметы яйца пассалурозов быстро достигают инвазионной стадии, а редкая уборка навоза способствует накоплению инвазионного материала во внешней среде и быстрому распространению инвазии среди восприимчивых животных, особенно если животные содержатся в клетках с деревянным полом, что только способствует накоплению яиц гельминтов. Попавшие на окружающие предметы яйца пассалурозов быстро достигают инвазионной стадии, а редкая уборка фекалий способствует накоплению инвазионного материала во внешней среде и быстрому распространению

инвазии среди восприимчивых животных, особенно если животные содержатся в клетках с деревянным полом. Бочаров Р. В. и Цепилова И.И. (2023) [13, с.31] в результате своих исследований пришли к выводу, что преобладающей инвазией у обследованного ими поголовья кроликов является пассалуроз. Экстенсивность инвазии превышала 63%. Гельминтоз был установлен у молодняка от 2-х до 5-ти месячного возраста в 100% случаев. Авторы обращают внимание на тот факт, что у взрослых самок инвазия встречается в 69% случаев, а у самцов почти в 44% и объясняют это сниженным иммунным статусом самок в связи с частыми родами и выкармливанием потомства.

Шадрова Н.В. (2019) [14, с. 282-284] указывает, что у кроликов на территории нашей страны из гельминтозов встречаются пассалуроз, трихоцефалез, стронгилоидоз и протостронгилез. Возбудители первых трех болезней поражают пищеварительный канал, а возбудитель стронгилоидоза локализуется в легких. Автор не приводит данных распространения этих инвазий и показателей экстенсивности и интенсивности на территории Российской Федерации.

Кроме вышеперечисленных гельминтозов, поражающих преимущественно кишечный канал, регистрируются гельминтозы, ларвальные стадии которых обнаруживают на сальнике, серозных оболочках органов брюшной полости у кроликов и зайцев. Колокольникова Д.В. и Лобанов Д.А. (2023) [15, с.272-274] констатируют факт высокой интенсивности инвазии ларвоцистами тениид (цистицерками пизиформными). У кроликов насчитывали более 600 ларвоцист цестоды *Taenia pisiformis*. Авторы указывают, что данный вид цистицерков широко распространен на территории Российской Федерации и пограничных странах в том числе и у зайцев. Например, в Ставропольском крае, цистицеркоз пизиформный у зайцев установлен более чем в 96% случаев. Инвазия регистрируется в регионах с разными климато - географическими параметрами. В северных и северо- восточных областях европейской части нашей страны зайцы-беляки заражены до 24%, в Татарстане – 39%, в Бурятии – 25%. Источником инвазии являются псовые у которых в тонком отделе кишечника паразитирует имагинальная стадия гельминта *Taenia pisiformis*. Кролики заражаются при поедании корма, обсемененного яйцами этой цестоды. Болезнь не имеет клинических признаков и при жизни животных ее диагностировать практически невозможно.

Кривко М.С. (2023) [16, с.1-6] на основе проведенных исследований, приводит данные, что на территории Ростовской области, экстенсивность инвазии цистицеркозом пизиформным у зайцарусака составляет 15%. Инвазия зарегистрирована в Азовском, Каменском, Орловском и Шолоховском районах, где экстенсивность инвазии варьировалась от 0 до 50%. Такой высокий показатель зараженности автор связывает с большим количеством диких и домашних псовых (лис, волков, шакалов, бродячих и охотничьих собак)- дефинитивных хозяев гельминта и источников инвазии. В силу своей высокой мобильности псовые перемещаются на большие расстояния за относительно короткий промежуток времени, загрязняя яйцами тениид окружающую среду.

Третьим по частоте встречаемости у кроликов является псороптоз. По данным Василевича Ф.И. и Кузиной А.М. (2022) [17, с.112,114-116] псороптоз является широко распространенным инвазионным заболеванием кроликов, причиняющим ощутимый экономический ущерб кролиководческим хозяйствам разных форм собственности. Авторами в эксперименте было установлено, что после заражения кроликов псороптесами на 20-й день опытов отмечали достоверное снижение массы тела, патологические изменения гематологических показателей в динамике и ухудшение биохимического состава мяса. Рыльская А.А. (2021) [18, с.284] провела клиническое и акарологическое исследование кроликов из частных хозяйств Барнаула и выявила, что они были поражены псороптозом более чем на 56%. Автор подчеркивает, что наиболее опасна бессимптомная форма псороптоза, без клинических проявлений, имеющая важное значение в эпизоотологии болезни. Так как псороптоз чаще регистрировали у крольчих, то по мнению автора, они являются источником заражения молодняка. Клинические проявления болезни наблюдаются у 1,5 – 2-х месячных крольчат. Чкалова М.В. (2021) [19, с.255-256] сообщает, что по результатам акарологических исследований поголовья кроликов, принадлежащих индивидуально подсобному хозяйству, было установлено, что интенсивность инвазии равна 15 экз. клещей на одно животное. Экстенсивность инвазии не превышала 10%. Необходимо отметить, что по данной инвазии количество научных источников в ведущих наукометрических базах России очень ограничено, в том числе за последние 10 лет, что указывает на необходимость изучения вопросов краевой эпизоотологии данной патологии в разных регионах страны.

По информации Акбаева Р. М. и Колпакова И. Д. (2022) [20, с. 218, 220] на территории Российской Федерации у кроликов встречается еще одна разновидность акариазов - хейлетиеллез. Возбудителем является тромбидиформный клещ, относящийся к семейству *Cheyletiidae*, виду *Cheyletiella parasitivorax*. Из обследованных 36 животных в 28 случаях была диагностирована данная инвазия.

Экстенсивность инвазии превысила 77%. Интенсивность инвазии у трех животных из 36 превышала 100 экз. хейлетиелл.

Заключение. В научных статьях за последние 10 лет приводится информация о наиболее часто встречающихся на территории Российской Федерации инвазионных болезнях кроликов, преимущественно в частных хозяйствах. Среди инвазионных болезней превалирует эймериоз. Инвазия регистрируется практически во всех хозяйствах, независимо от технологии содержания, целевого выращивания и применения эймериостатиков. Интенсивность и экстенсивность эймериозной инвазии зависит от времени года и возраста кроликов и часто достигает 100%. Второй по эпизоотической значимости болезнью является пассалуроз. Болеют преимущественно животные от 3-х до 7-ми мес. возраста. Экстенсивность инвазии варьируется от 20 до 100%, интенсивность инвазии – от 1 до 12 экз. яиц гельминта на животное. На третьем месте по частоте встречаемости находится псороптоз. Экстенсивность инвазии варьируется от 10 до 56%, интенсивность инвазии- 15 экз. клещей на животное. Болезнь наблюдается у животных с 1,5-2-х мес. возраста. При всех инвазионных болезнях взрослые животные, не имеющие выраженных клинических признаков, являются носителями и источником заражения молодняка паразитами.

Список источников

1. Балакирев Н.А. Современное состояние кролиководства в России и перспективы его развития / Балакирев Н.А. // Кролиководство и звероводство.- 2023.- №3. – С. 3 – 7.
2. Жуков, А. П. Современные проблемы ветеринарной медицины и биологии: материалы конференции / А. П. Жуков. – Оренбург: Оренбургский ГАУ, 2021. – С. 151.
3. Злобин А. В. Эпизоотологическое и ветеринарно-санитарное благополучие звероводческих хозяйств Удмуртской республики, как составляющие их экономического развития / А.В. Злобин, Г.Н. Бурдов, Н.Н. Рошупкин // Ветеринарный врач, 2024. - № 1.-С.23-27.
4. Черных О.Ю. Эпизоотическая ситуация по инвазионным заболеваниям в регионе Северного Кавказа / О.Ю. Черных, Ю.А. Дробин, А.А. Шевченко // Ветеринарный врач. - 2019. -№ 3.-С.9-11.
5. Бурганова Э. Р. Распространение эймериоза кроликов в условиях стационара по уходу за животными Красноярского ГАУ / Бурганова Э.Р., Клим Ю.Н., о. Дажы А.К.Э.// Материалы XVIII Всероссийской студенческой науч. конф.- Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет. – 2023. Ч. 2.– С. 179-183.
6. Цепилова И. И. Распространение паразитарных болезней кроликов в Московском регионе / Цепилова И.И., Коновалов А.П., Квартникова Е.Г. // Ветеринария Кубани. – 2023. – № 5. – С. 15-18.
7. Алимсеитова А. И., Лукьянов Р. Ю. Сезонно-возрастная поражённость эймериозно-пассалурозной инвазией кроликов //Фундаментальные и прикладные аспекты развития современной науки. – 2023. – С. 60-64.
8. Любченко Е.Н. Эймериоз кроликов и пути его распространения /Е.Н. Любченко, Д.А. Попова, М.Ю. Дьяченко // Аграрный вестник Приморья. -2023.-№2(30).-С.34-37.
9. Васильева О. В. Ассоциативные паразитозы кроликов в ЛПХ Мостовского района Краснодарского края / Васильева О.В., Дурнева В.А., Катаева Т.С. // Научное обеспечение агропромышленного комплекса.- Т. 1.- Ч. 1. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина. – 2021. – С. 161-163.
10. Акбаев Р.М. Пассалуроз кроликов: распространенность на территории частных подворий Московской и Тульской областей / Р.М. Акбаев, А.А. Клещюнова, С.М. Розинский // Дневник науки. - 2024.-№ 11, www.dnevniknauki.ru
11. Акбаев Р.М. К вопросу об эпизоотической ситуации по пассалурозу кроликов, содержащихся в условиях частных подворий на территории Владимирской области /Р.М. Акбаев, Кривонос Л.А., Лысенко А.А. //Ветеринария Кубани, 2025.- №5.- С.23-26.
12. Верещенко А.С. Пассалуроз кроликов в частном секторе Усольского района Иркутской области / А.С. Верещенко, С.А. Павлов // В сборнике: В мире научных открытий. Матер. IV Междунар. студ. научн. конф.. Ульяновск. – 2020. – С. 84-86.
13. Бочаров Р. В. (2023) Эндопаразитофауна кроликов в Московском регионе/ Р.В. Бочаров, И.И. Цепилова // Фундаментальные и прикладные научные исследования.- 2023.- С.28-32.
14. Шадрова Н. В. Основные нематодозы кроликов и методы их диагностики/ Н.В. Шадрова //Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. – 2019. – С. 282-284.
15. Колокольникова Д. В. Распространение цистицеркоза зайцеобразных в Российской Федерации / Д. В. Колокольникова, А. А. Лобанова // Научное обеспечение животноводства Сибири : матери-

алы VII Международной научно-практической конференции; — Красноярск: Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», 2023. — С. 272–274.

16. Кривко М.С. Пораженность зайца-русака цистицеркозом на территории Ростовской области / Тамбиев Т.С., Кривко А.С., Кажанова М.Д. и др. // Journal of Agriculture and Environment.- № 5 (45).- С.1-6.
17. Василевич Ф.И. Влияние псороптоза на продуктивные показатели кроликов / Василевич Ф.И., Кузина А.М. // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2022. – №23. – С. 112-117.
18. Рыльская А.А. Псороптоз кроликов в Алтайском крае / А.А. Рыльская // Вестник молодежной науки Алтайского государственного аграрного университета. Сб. науч.тр.– 2021.- №1.- С. 295-297.
19. Чакалова М.В. Заболеваемость кроликов псороптозом в условиях личного подсобного хозяйства хутора Старая Станица Ростовской области / М.В. Чакалова, Т.С. Катаева // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: материалы 76-й научно практической конференции студентов по итогам НИР за 2020 год. Краснодар. – 2021.-С. 254-256 с.
20. Акбаев Р. М. Хейлетиеллэз кроликов, вызванный клещами *Cheyletiella parasitivorax* (Megnin, 1878), (Trombidiformes: Cheyletidae)/ Р.М. Акбаев, И.Д.Колпаков, А.Д.Филиппова //Ветеринария.- 2022.-№ 2(94).- С.218- 223.

References

1. Balakirev N.A. The current state of rabbit breeding in Russia and the prospects for its development / Balakirev N.A. // Rabbit breeding and animal husbandry.- 2023.- No. 3. – pp. 3-7.
2. Zhukov, A. P. Modern problems of veterinary medicine and biology: conference proceedings / A. P. Zhukov. Orenburg: Orenburg State Agrarian University, 2021, p. 151.
3. Zlobin A.V. Epizootological and veterinary-sanitary welfare of fur farms of the Udmurt Republic as components of their economic development / A.V. Zlobin, G.N. Burdov, N.N. Roshchupkin // Veterinarian, 2024, No. 1, pp.23-27.
4. Chernykh O.Y. Epizootic situation of invasive diseases in the North Caucasus region / O.Y. Chernykh, Yu.A. Drobin, A.A. Shevchenko // A veterinarian. - 2019. -No. 3.-pp.9-11.
5. Burganova E. R., Klim Yu.N., O. Dazhy A.K.E. The spread of rabbit eimeriosis in the animal care hospital of the Krasnoyarsk State Agrarian University // Proceedings of the XVIII All-Russian Student Scientific Conference. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University. – 2023. Part 2.– pp. 179-183.
6. Tsepilova I.I., Konovalov A.P., Kvartnikova E.G. The spread of parasitic diseases of rabbits in the Moscow region // Veterinary Medicine of Kuban. - 2023. – No. 5. – pp. 15-18.
7. Alimseitova A. I., Lukyanov R. Yu. Seasonal and age-related infection with eimeriosis-passalurous invasion of rabbits //Fundamental and applied aspects of the development of modern science. - 2023. – pp. 60-64.
8. Lyubchenko E.N. Eimeriosis of rabbits and ways of its spread /E.N. Lyubchenko, D.A. Popova, M.Yu. Dyachenko // Agrarian Bulletin of Primorye. -2023.-№2 (30).- Pp.34-37.
9. Vasilyeva O.V., Durneva V.A., Kataeva T.S. Associative parasitosis of rabbits in the agricultural sector of the Mostovsky district of the Krasnodar Territory // Scientific support of the agro-industrial complex.- Vol. 1.- Part 1. – Krasnodar: I.T. Trubilin Kuban State Agrarian University. - 2021. – pp. 161-163.
10. Akbaev R.M. Rabbit passalurosis: prevalence in private farmsteads of the Moscow and Tula regions / R.M. Akbaev, A.A. Kleschunova, S.M. Rozinsky // Diary of science. -2024.-№ 11, www.dnevniknauki.ru
11. Akbaev R.M. On the issue of the epizootic situation of passalurosis in rabbits kept in private farmsteads in the Vladimir region / R.M. Akbaev, Krivonos L.A., Lysenko A.A. //Veterinary Medicine of Kuban, 2025, No. 5, pp.23-26.
12. Vereshchenko A.S. Passalurosis of rabbits in the private sector of the Usolsky district of the Irkutsk region / A.S. Vereshchenko, S.A. Pavlov // In the collection: In the world of scientific discoveries. Mater. IV International Student Scientific Conference. Ulyanovsk, 2020, pp. 84-86.
13. Bocharov R. V. (2023) Rabbit endoparasitofauna in the Moscow region/ R.V. Bocharov, I.I. Tsepilova // Fundamental and applied scientific research.- 2023.- pp.28-32.
14. Shadrova N. V. The main nematodes of rabbits and methods of their diagnosis/ N.V. Shadrova //Harmonization of approaches to pharmaceutical development. – 2019. – pp. 282-284.

15. Kolokolnikova D. V. The spread of cysticercosis of hares in the Russian Federation / D. V. Kolokolnikova, A. A. Lobanova // Scientific support of Siberian animal husbandry : proceedings of the VII International Scientific and practical Conference; - Krasnoyarsk: Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", 2023. — pp. 272-274.
16. Krivko M.S. Infestation of the Russian hare with cysticercosis in the Rostov region / Tambiev T.S., Krivko A.S., Kazhanova M.D. et al.// Journal of Agriculture and Environment.- No. 5 (45).- pp.1-6.
17. Василевич Ф.И. Влияние псороптоза на продуктивные показатели кроликов / Василевич Ф.И., Кузина А.М. // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2022. – №23. – С. 112-117.
18. Rylskaya A.A. Psoroptosis of rabbits in the Altai Territory / A.A. Rylskaya // Bulletin of Youth Science of Altai State Agrarian University. Collection of scientific papers– 2021.- No. 1.- pp. 295-297.
19. Chakalova M.V. The incidence of psoroptosis in rabbits in the conditions of a personal subsidiary farm in the village of Staraya Stanitsa, Rostov region / M.V. Chakalova, T.S. Kataeva // Scientific support of the agro-industrial complex: materials of the 76th scientific and practical conference of students on the results of research for 2020. Krasnodar. – 2021.-pp. 254-256 p.
20. Akbaev R. M. Rabbit cheyletiellosis caused by ticks Cheyletiella parasitivorax (Megnin, 1878), (Trombidiformes: Cheyletidae)/ R.M. Akbaev, I.D.Kolpakov, A.D.Filippova //Veterinary medicine.- 2022.-№ 2(94).- Pp.218-223.

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 20.02.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 113 – 118
The Veterinarian. 2026; (2): 113 – 118

Научная статья
УДК 619.616-095:636.2.034
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_113

ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ПЦР-РВ ИНДИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ БАБЕЗИОЗА СОБАК

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
Айрат Минсагитович Идрисов, кандидат ветеринарных наук, idr75@yandex.ru
Ришат Салаватович Мухаммадиев, кандидат биологических наук, tashir9891@mail.ru
Наиль Ильдарович Хаммадов, кандидат биологических наук, nkhammadov@mail.ru

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

Автор, ответственный за переписку: Рафкат Искандарович Шангараев.

Аннотация. Бабезиоз представляет серьезную угрозу для здоровья собак. Животные заражаются при укусе клещей, инфицированных возбудителями. Бабезиоз собак в Российской Федерации кроме крайних северных регионов распространен повсеместно. Пик зараженности приходится на весенне-осенний период, когда иксодовые клещи проявляют наибольшую активность. Своевременная, достоверная экспресс-диагностика бабезиоза собак дает возможность установить диагноз и начать специфическую, а также поддерживающую терапию и тем самым снизить риск неблагоприятного прогноза заболевания. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) благодаря высокой чувствительности, специфичности и оперативности с успехом применяется для индикации возбудителей бабезиоза. Цель данной работы – поиск специфических генетических локусов и дизайн олигонуклеотидных праймеров для ПЦР-диагностики *Babesia canis*. Для молекулярно-генетической индикации данного возбудителя были выбраны гены *Bc28.1*, кодирующий одного из основных поверхностных антигенов мерозонта и белка теплового шока *HSP-70*. Проведенный биоинформационный анализ указанных выше генов позволил установить, что наиболее перспективными для дизайна олигонуклеотидных затравок для ПЦР-РВ являются локусы от 174 до 312 пар нуклеотидов (п.н) для гена *Bc28.1* и от 1150 до 1500 п.н. для гена *HSP-70*. Для амплификации фрагмента гена *Bc28.1* длиной 108 п.н. была сконструирована комбинация праймеров обозначенная как *Bc28.1FP* и *Bc28.1RP*, а также зонд *Bc28.1P*. Праймеры *BCHSPFP*, *BCHSPRP*, и зонд *BCHSP* комплементарны к участку гена *HSP-70* длиной 101 п.н. Представленные в настоящем исследовании олигонуклеотиды обладают оптимальными характеристиками для выявления и идентификации *B. canis* и могут быть использованы в качестве специфических компонентов при создании новых современных тест-систем для молекулярно-генетической диагностики данного заболевания.

Ключевые слова: бабезиоз, диагностика, олигонуклеотидные праймеры, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, собаки

Для цитирования: Шангараев Р.И., Усольцев К.В., Горбунова М.Е., Осянин К.А., Идрисов А.М., Мухаммадиев Риш.С., Хаммадов Н.И. Поиск генетических маркеров для ПЦР-РВ индикации возбудителя бабезиоза собак // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 113 – 118. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_113

SEARCH FOR GENETIC MARKERS FOR RT PCR INDICATION OF THE BABESIOSIS AGENTS IN DOGS

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*
 Airat M. Idrisov, candidate of veterinary sciences
 Rishat S. Mukhammadiev, candidate of biological sciences, *tashir9891@mail.ru*
 Nail I. Khammadox, candidate of biological sciences, *nkhammadox@mail.ru*

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

Corresponding author: Rafkat Iskandorovich Shangaraev.

Abstract. Babesiosis poses a serious threat to the health of dogs. Animals become infected through the bite of ticks infected with the pathogen. Canine babesiosis is widespread throughout the Russian Federation, except for the far northern regions. Peak infection rates occur in the spring and fall, when ticks are most active. Timely, accurate rapid diagnostic testing of canine babesiosis allows for diagnosis and initiation of specific and supportive therapy, thereby reducing the risk of an unfavorable prognosis. Polymerase chain reaction (PCR), due to its high sensitivity, specificity, and rapidity, is successfully used to identify the causative agents of babesiosis. The aim of this study was to identify specific genetic loci and design oligonucleotide primers for PCR diagnostics of *Babesia canis*. For molecular genetic identification of this pathogen, the *Bc28.1* genes encoding one of the major merozoite surface antigens and the heat shock protein *HSP-70* were selected. Bioinformatic analysis of the above-mentioned genes revealed that the most promising loci for the design of oligonucleotide primers for real-time PCR are those from 174 to 312 nucleotide pairs (bp) for the *Bc28.1* gene and from 1150 to 1500 bp for the *HSP-70* gene. To amplify a 108 bp fragment of the *Bc28.1* gene, a combination of primers designated Bc28.1FP and Bc28.1RP, as well as a Bc28.1P probe, were constructed. Primers BCHSPFP and BCHSPRP, and probe BCHSP are complementary to a 101 bp region of the *HSP-70* gene. The oligonucleotides presented in this study have optimal characteristics for the detection and identification of *B. canis* and can be used as specific components in the creation of new modern test systems for the molecular genetic diagnosis of this disease.

Keywords: babesiosis, diagnostics, oligonucleotide primers, real-time polymerase chain reaction, dogs

Введение. Бабезиоз собак – это трансмиссивная кровепаразитарная протозойная болезнь, характеризующаяся гемолитической анемией, лихорадкой и тяжелым клиническим течением. Возбудителями болезни являются *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, *Babesia rossi* (крупные формы); *Babesia gibsoni*, *Babesia conradae* и *Babesia vulpes* (морфологически мелкие формы) [1].

Диагностика бабезиоза собак осуществляется комплексно, с учетом эпизоотологических (сезон года), клинических (лихорадка, угнетенное состояние, симптомы кардио-респираторной недостаточности, желтушность видимых слизистых оболочек) данных и результатов лабораторных исследований. Лабораторные методы диагностики включают общий и биохимический анализ крови, мочи, микроскопия мазков крови, а также серологические тесты: иммуноферментный анализ (ИФА), реакция связывания комплемента (РСК), реакция иммунофлуоресценции (РИФ), молекулярно-генетические исследования: полимеразная цепная реакция (ПЦР) [2]. ПЦР благодаря высокой чувствительности и специфичности подтверждает результаты других лабораторных методов, а также исключает ложноотрицательный диагноз при низкой степени паразитемии, когда с помощью микроскопии бабезии не обнаруживаются [3].

Изучение генома *B. canis* дает возможность выяснять некоторые аспекты патогенеза бабезиоза собак (идентификация белков клеточной поверхности и генов факторов патогенности). Также анализ генома является важным этапом при разработке высокочувствительных ПЦР-тест-систем. Геномная ДНК *B. canis* состоит более 7 млн пар нуклеотидов (п.н.), распределенных в четырех хромосомах, 45,8 % содержанием гуанин-цитозиновых нуклеотидов, общее число генов равно 3467, средняя длина гена составляет 1044 п.н. Гены, кодирующие гипотетические белки, составляют 55,8 %, поверхностные антигены мерозоида – 26,4 %, специфические секретируемые белки – 9 %, другие белки – 8,6 % [4].

Подбор высокоспецифичных локусов генома возбудителя и дизайн олигонуклеотидных праймеров, оптимизация условий амплификации обеспечивают высокую эффективность и специфичность ПЦР-анализа [5]. В качестве генетических маркеров для молекулярно-генетической индикации возбудителей бабезиоза собак разными исследователями были предложены локусы следующих генов: 18S рРНК [6]; белка теплового шока [7]. Для специфической индикации *B. canis* Kivranе A. [8] и др. предлагают выбрать консервативный ген *Bc28.1*, кодирующий один из основных поверхностных ан-

тигенов мерозойта. Индикация *B. canis* по двум генетическим локусам повышает чувствительность и специфичность анализа; позволяет дифференцировать *B. canis* от других близкородственных видов; дает возможность определить филогенетические связи идентифицированного изолята с другими штаммами.

Цель данной работы – поиск специфических генетических локусов и дизайн олигонуклеотидных праймеров для молекулярно-генетической индикации *B. canis*.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись нуклеотидные последовательности генов *Bc28.1*, и *HSP-70*. Для биоинформационного анализа гена *Bc28.1* *B. canis* были использованы следующие нуклеотидные последовательности, сохраненные из базы данных NCBI Genbank ID: KP863715.1, KP863714.1, KP863713.1, MN078336.1, MN078335.1, MN078334.1, MN078333.1, MN078332.1, MN078331.1, MN078330.1, MN078329.1, MN078328.1, MN078327.1, MN078326.1, MN078325.1, MN078324.1, MN832762.1, MN832761.1, MN832760.1.; гена *HSP-70* *B. canis* следующие нуклеотидные последовательности Genbank ID: AB248735.1, AB248734.1, AB248733.1, PX061234.1, PX061235.1, PX061236.1, PX061237.1, PX061238.1, PX061239.1, PX061240.1, PX061241.1, PX061242.1.

С целью оценки степени гомологии нуклеотидной последовательности гена *Bc28.1* с гетерологичными нуклеотидными последовательностями была использована онлайн-утилита BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей генов *Bc28.1* и *HSP-70* *B. canis* была выполнена на программе Unipro Ugene V53 («Унипро», Россия); дизайн олигонуклеотидных праймеров – в программе Vector NTI 9.1 (Invitrogen Corporation, Карлсбад, США).

Результаты исследований и их обсуждение. ПЦР благодаря высокой чувствительности и специфичности позволяет провести индикацию фрагмента генома *B. canis* на ранних стадиях заболевания. Ген *Bc28.1* кодирует основной поверхностный белок мерозойта, который участвует в инфицировании эритроцитов. Данный ген специфичен только к *B. canis* и является молекулярно-генетической мишенью для его индикации. Также существует методика генотипирования *B. canis* по полиморфизму данного гена [9]. Множественным выравниванием нуклеотидных последовательностей гена *Bc28.1* *B. canis* в позиции от 174 до 312 п.н. был установлен локус с минимальным количеством однонуклеотидных полиморфизмов, который был выбран для дизайна олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченного зонда (рисунок 1).

Рисунок 1 – Консервативный локус гена *Bc28.1* *B. canis* для дизайна олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченного зонда (интерфейс программы Unipro Ugene V53)

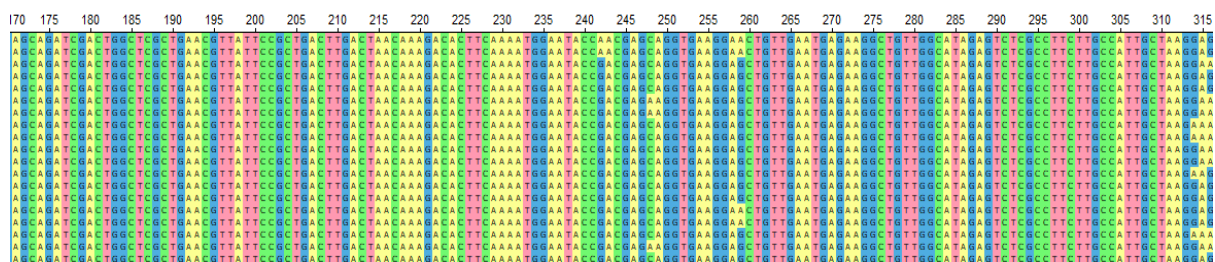
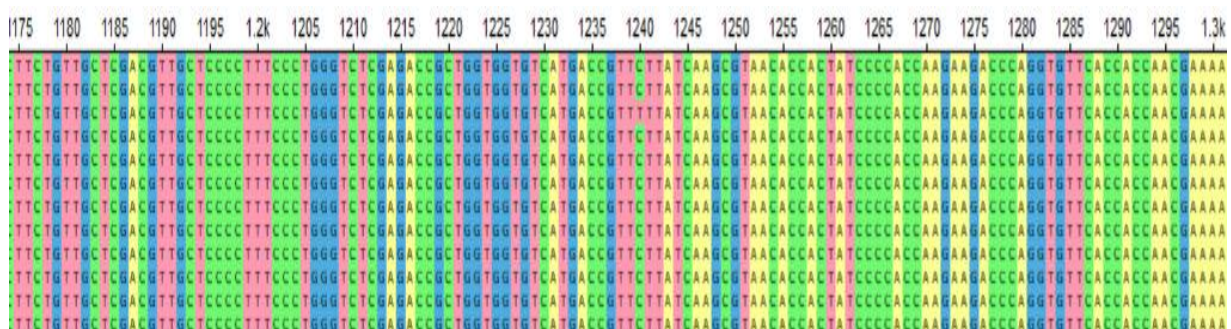


Рисунок 2 – Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей гена *HSP-70* *B. canis* (интерфейс программы Unipro Ugene V53)



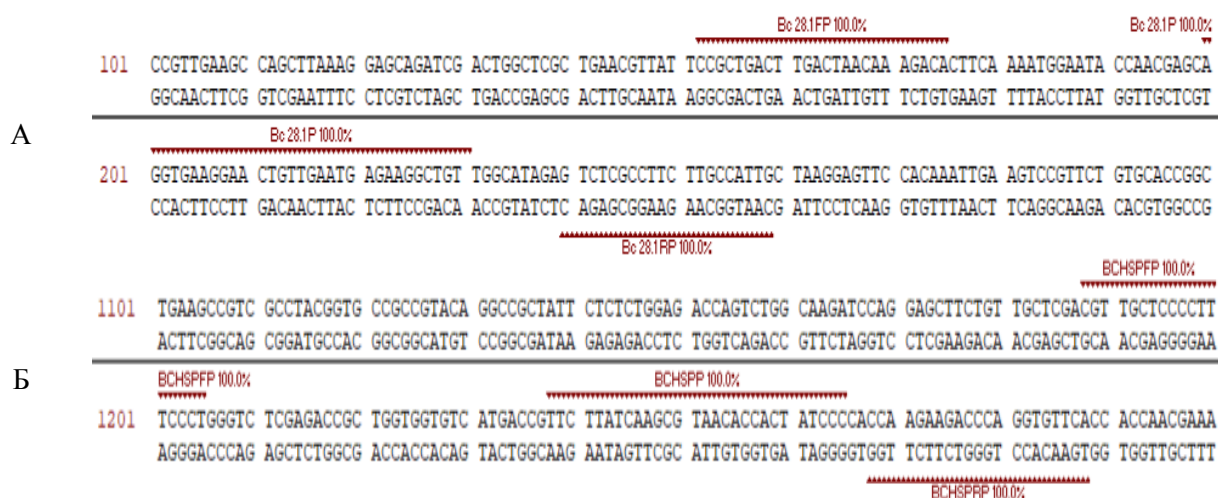
Гены белков теплового шока используются для родовой индикации бабезий. Белок HSP-70 выполняет важные физиологические функции: связывает новообразующиеся белки и контролирует их корректный рефолдинг (формирование третичной структуры). Ген белка теплового шока *HSP-70* является высококонсервативным и устойчивым к мутациям геном возбудителей бабезиоза [10]. Результат множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей гена *HSP-70 B. canis* представлен на рисунке 2. Как видно из рисунка 2, фрагмент гена *HSP-70* в позиции от 1180 до 1300 п.н. имел минимальное число нуклеотидных замен, и может быть использован для дизайна олигонуклеотидных затравок.

На выбранные генетические локусы *B. canis* разработаны праймерные комбинации и флуоресцентно-меченные зонды. Краткая характеристика праймеров, зондов, места их гибридизации в целевых нуклеотидных последовательностях генов *Bc28.1* и *HSP-70* представлены в таблице 1 и на рисунке 3.

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

Ген	Обозначение олигонуклеотидов	Позиция в целевой последовательности (относительно GenBank ID: KP863715.1 (<i>Bc28.1</i>), AB248735.1 (<i>HSP-70</i>))	Температура плавления T _m , °C	ГЦ-состав, %	Нуклеотидная последовательность 5' → 3'
<i>Bc28.1</i>	Bc28.1FP	152-176	55,3	45,8	ccgctgacttgactaacaaga ca
	Bc28.1P	200-231	64,9	45,2	ROX- aggtgaaggactgtt- gaatgagaaggctgt-RTQ2
	Bc28.1RP	240-260	54,7	55,0	caatggcaagaaggcgagac
<i>HSP-70</i>	BCHSPFP	1188-1206	53,9	61,1	cgttgctcccttccct
	BCHSPP	1238-1266	59,0	42,9	R6G- ttcttatcaagcgtaacaccact atccc-BHQ1
	BCHSPRP	1268-1289	53,9	52,4	tgaacacctgggtcttcttgg

Рисунок 3 – Места гибридизации разработанных праймеров и зондов в целевых нуклеотидных последовательностях генов: А – *Bc28.1 B. canis* (GenBank ID: KP863715.1); Б – *HSP-70 B. canis* (GenBank ID: AB248735.1)



Олиго-анализ разработанных праймеров и зондов показал следующие результаты: прямой праймер Bc28.1FP длиной 24 нуклеотидов образует четыре димера и две шпильки, свободная энергия Гиббса которых составляет 1,1-1,5 и 0,5-0,6 ккал / моль соответственно. Зонд Bc28.1P имеет длину 24 нуклеотидов, образует два димера (свободная энергия Гиббса – 1,7 ккал / моль). Обратный праймер

Bc28.1RP (длина 20 нуклеотидов) не образует димеров и шпилек. Длина амплифицируемого участка гена *Bc28.1* равна 108 п.н., при BLAST-анализе данного фрагмента выявлено отсутствие гомологичных нуклеотидных последовательностей в базе данных NCBI.

Олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентный зонд, амплифицирующие фрагмент гена *HSP-70* имели следующие результаты олиго-анализа: прямой праймер BCHSPFP имеет длину 18 нуклеотидов, не образует димеров и шпилек. Зонд BCHSP (длина 28 нуклеотидов) образует четыре димера и две шпилки. Величина свободной энергии Гиббса димеров равна 1,5 и 2,1 ккал / моль, шпилек – 1,2 и 3,9 ккал / моль соответственно. Обратный праймер BCHSPRP имеет длину 21 нуклеотидов, образует четыре димера и одну шпильку. Свободная энергия Гиббса димеров составляет 0,6 и 1,5 ккал / моль, шпилки – 0,8 ккал / моль соответственно. Длина амплифицируемого участка гена *HSP-70* составляет 101 п.н.

Заключение. По результатам данных литературы для биоинформационного анализа были выбраны высококонсервативные гены *Bc28.1* и *HSP-70*, кодирующие одного из основных антигенов мерозоита и белка теплового шока с молекулярной массой 70 кДа *B. canis*. Биоинформационным анализом были установлены перспективные генетические локусы для дизайна олигонуклеотидных праймеров: по гену *Bc28.1* – от 174 до 312 пар нуклеотидов (обозначение относительно изолята GenBank ID: KP863715.1); по гену *HSP-70* – от 1150 до 1500 пар нуклеотидов (обозначение относительно изолята GenBank ID: AB248735.1). На данные локусы были сконструированы олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентные зонды, определены их основные характеристики. Представленные в настоящем исследовании олигонуклеотиды обладают оптимальными характеристиками для выявления и идентификации *B. canis* и могут быть использованы в качестве специфических компонентов при создании новых современных тест-систем для молекулярно-генетической диагностики данного заболевания.

Список источников

1. Panti-May J.A, Rodríguez-Vivas R.I. Canine babesiosis: A literature review of prevalence, distribution, and diagnosis in Latin America and the Caribbean // Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports. – 2020. – Vol. 21:100417. doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100417.
2. Диагностика и лечение при ассоциативном течении эрлихиоза и бабезиоза у собак / М. С. Кривко, Т. С. Тамбиев, А. Н. Тазаян, А. А. Миронова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2020. – № 1(60). – С. 180-183.
3. 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.
4. Genome-wide analysis of gene expression and protein secretion of *Babesia canis* during virulent infection identifies potential pathogenicity factors / R.M. Eichenberger, C. Ramakrishnan, G. Russo [et all.] // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7(1):3357. doi: 10.1038/s41598-017-03445-x.
5. 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.
6. Molecular Survey of Tick-Borne Haemoparasites of Dogs by Multiplex Polymerase Chain Reaction from Punjab, India / H. Singh, M. Padmaja, A.M. Thomas [et all.] // Acta Parasitol. – 2024. – Vol. 69(3). – P. 1458-1470. doi: 10.1007/s11686-024-00856-5.
7. A molecular and serological survey in Taiwan to determine the true risk of babesiosis in dogs not receiving regular tick prevention / Yang W.Y., Reynolds C., A. Mestek [et all.] // Vet. Parasitol Reg. Stud. Reports. – 2022. – Vol. 27:100670. doi: 10.1016/j.vprsr.2021.100670.
8. Development of a real-time PCR method for rapid diagnosis of canine babesiosis and anaplasmosis / Kivran A., Namina A., Seleznova M. [et all.] // Parasit. Vectors. – 2021. – Vol. 14(1):266. doi: 10.1186/s13071-021-04756-9.
9. Randazzo S. Classification of *Babesia canis* strains in Europe based on polymorphism of the *Bc28.1*-gene from the *Babesia canis* *Bc28* multigene family. Veterinary Parasitology. – 2015. – doi:10.1016/J.VETPAR.2015.05.028.
10. Sequence analysis of the *thrombospondin-related adhesive protein* gene and *heat shock protein 70* gene of *Babesia gibsoni* isolated from dogs in Nanjing, China / Lin H.R., Mei X.T., Hong Y.F. [et all.] // Infect. Genet. Evol. – 2017. – Vol. 56. – P. 111-116. doi: 10.1016/j.meegid.2017.11.017.

References

1. Panti-May J.A, Rodríguez-Vivas R.I. Canine babesiosis: A literature review of prevalence, distribution, and diagnosis in Latin America and the Caribbean // Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports. – 2020. – Vol. 21:100417. doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100417.
2. Diagnostics and treatment of associative ehrlichiosis and babesiosis in dogs / M. S. Krivko, T. S. Tambiev, A. N. Tazayan, A. A. Mironova // Bulletin of Michurinsk State Agrarian University. - 2020. - No. 1 (60). - P. 180-183.
3. Search for genetic markers for PCR-RV indication of the babesiosis agent in cattle / Shangaraev R.I., Usoltsev K.V., Gorbunova M.E. [et all.] // The Veterinarian. – 2026. – № 1. – С. 87-93. – doi 10.33632/1998-698X_2026_1_87.
4. Genome-wide analysis of gene expression and protein secretion of *Babesia canis* during virulent infection identifies potential pathogenicity factors / R.M. Eichenberger, C. Ramakrishnan, G. Russo [et all.] // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7(1):3357. doi: 10.1038/s41598-017-03445-x.
5. Development of oligonucleotide primers for identification of the infectious salmon anemia / Osyanin K.A., Gromova E.A., Dodonova E.A. // The Veterinarian. – 2025. – № 4. – С. 81-85. – doi 10.33632/1998-698X_2025_4_81.
6. Molecular Survey of Tick-Borne Haemoparasites of Dogs by Multiplex Polymerase Chain Reaction from Punjab, India / H. Singh, M. Padmaja, A.M. Thomas [et all.] // Acta Parasitol. – 2024. – Vol. 69(3). – P. 1458-1470. doi: 10.1007/s11686-024-00856-5.
7. A molecular and serological survey in Taiwan to determine the true risk of babesiosis in dogs not receiving regular tick prevention / Yang W.Y., Reynolds C., A. Mestek [et all.] // Vet. Parasitol Reg. Stud. Reports. – 2022. – Vol. 27:100670. doi: 10.1016/j.vprsr.2021.100670.
8. Development of a real-time PCR method for rapid diagnosis of canine babesiosis and anaplasmosis / Kivran A., Namina A., Seleznova M. [et all.] // Parasit. Vectors. – 2021. – Vol. 14(1):266. doi: 10.1186/s13071-021-04756-9.
9. Randazzo S. Classification of *Babesia canis* strains in Europe based on polymorphism of the *Bc28.1*-gene from the *Babesia canis* *Bc28* multigene family. Veterinary Parasitology. – 2015. – doi:10.1016/J.VETPAR.2015.05.028.
10. Sequence analysis of the *thrombospondin-related adhesive protein* gene and *heat shock protein 70* gene of *Babesia gibsoni* isolated from dogs in Nanjing, China / Lin H.R., Mei X.T., Hong Y.F. [et all.] // Infect. Genet. Evol. – 2017. – Vol. 56. – P. 111-116. doi: 10.1016/j.meegid.2017.11.017.

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 13.03.2026;

© Шангараев Р.И., Усольцев К.В., Горбунова М.Е., Осянин К.А., Идрисов А.М., Мухаммадиев Риш. С., Хаммадов Н.И. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 119 – 124
The Veterinarian. 2026; (2): 119 – 124

Научная статья

УДК 636.5.082.4:577.158

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_119

РОЛЬ НИКОТИНАМИДАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА В СИСТЕМЕ ПОВЫШЕНИЯ ВИТАЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА МОЛОДНЯКА КУР

Татьяна Олеговна Азарнова ¹, доктор биологических наук, azarena@list.ru

Ксения Алексеевна Ерхова ¹, kseniyaerhova@bk.ru

Евгения Николаевна Индюхова ², кандидат биологических наук, indyuhova@vniigis.ru

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина» (109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23), г. Москва, Российская Федерация

²Всероссийский 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», г. Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Ксения Алексеевна Ерхова.

Аннотация. В данной работе рассматривается эффективность применения никотинамидадениндинуклеотида - важнейшего участника ключевых энергетических процессов, компенсаторных реакций, а также различных жизненно важных синтезов, для повышения биологической полноценности молодняк кур. Эксперимент осуществляли в ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина на базе кафедры химии имени профессоров С.И. Афонского, А.Г. Малахова с использованием инкубационных яиц, полученных от кур яичного направления продуктивности, подобранных по 100 штук в партию по принципу аналогов: с учетом времени снесения, сроков хранения и массы. Проведенные исследования показали, что однократная обработка инкубационных яиц кур растворами никотинамидадениндинуклеотида в широком диапазоне концентраций определила условия для повышения витального потенциала молодняк кур, что обусловило рост эмбриональной жизнеспособности (вывод цыплят и выводимость яиц превосходили контроль в 1-ой группе на 9,2% и на 9,2%, во 2-ой - на 5,3% и на 5,3%, в 3-ей - на 10,7% и на 11,84%, в 4-ой - на 4,8% и на 2,6%, соответственно), а также повышение живой массы, температуры тела, оптимизацию соотношения массы тела цыпленка к массе яйца, а вместе с тем увеличение совокупной оценки по шкале «Опистарт +»: в 1-ой опытной группе на 1,1 ($p < 0,01$), во 2-ой на 1,0 ($p < 0,05$), в 3-ей на 1,2 ($p < 0,01$) и в 4-ой на 0,7 балла. Наилучшие результаты по совокупности представленных в статье показателей, были получены в 3-ей опытной группе. Получение позитивных результатов во всех представленных в работе группах, свидетельствует о перспективности использования и высокой биологической активности изучаемого естественного метаболита.

Ключевые слова: никотинамидадениндинуклеотид, цыплята суточного возраста, жизнеспособность, качество, инкубация

Для цитирования: Азарнова Т.О., Ерхова К.А., Индюхова Е.Н. Роль никотинамидадениндинуклеотида в системе повышения витального потенциала молодняк кур // Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 119 – 124. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_119

THE ROLE OF NICOTINAMIDADENYNDINUCLEOTIDE IN THE SYSTEM OF VITAL POTENTIAL OF YOUNG CHICKENS

Tatiana O. Azarnova ¹, Doctor of Biological Sciences, azarena@list.ru

Kseniya A. Erhova ¹, student, kseniyaerhova@bk.ru

Evgeniya N. Indyukhova ², Candidate of Biological Sciences, indyuhova@vniigis.ru

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - K. I. Skryabin Moscow Veterinary Academy", Moscow, Russian Federation

²All-Russian Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants - a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Kseniya Alekseevna Erhova.

Abstract. This paper examines the effectiveness of using nicotinamide adenine dinucleotide, an essential component of key energy processes, compensatory reactions, and various vital syntheses, to enhance the biological integrity of young chickens. The experiment was carried out at the K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology on the basis of the Department of Chemistry named after Professors S.I. Afonsky and A.G. Malakhov, using hatching eggs obtained from egg-laying hens, selected in batches of 100 eggs based on the principle of similarity: taking into account the time of laying, storage time, and weight. The conducted studies showed that pre-incubation treatment of eggs with solutions of the claimed metabolite in a wide range of concentrations resulted in the production of higher-quality and more viable chicks, which was reflected in an increase in the live weight and temperature of the young chicks at one day of age. The data obtained indicate that a single treatment of incubating chicken eggs with nicotinamide adenine dinucleotide solutions in a wide range of concentrations determined the conditions not only for increasing the biological viability of young chickens, which resulted in an increase in body weight, body temperature, and an "Optistart +" score, but also embryonic viability (brood of chickens and egg hatchability exceeded control in the 1st group increased by 9.2% and 9.2%, in the 2nd - by 5.3% and 5.3%, in the 3rd - by 10.7% and 11.84%, in the 4th - by 4.8% and 2.6%). The positive results obtained in all the groups presented in the work indicate the high biological activity of the natural metabolite under study.

Keywords: nicotinamide adenine dinucleotide, young animals of daily age, viability, quality, incubation

Введение: Птицеводство – один из ключевых сегментов животноводства, поставляющий населению РФ продукцию высокой биологической ценности (мясо, яйца) и сырье (перо). Отрасль обеспечивает весомый вклад в национальную продовольственную безопасность. Особенностью птицеводства выступает способность производить большие объемы продукции в минимальные сроки при относительно низких удельных инвестициях по сравнению с другими подотраслями животноводства. Это преимущество определяется коротким циклом инкубации яиц и интенсивными темпами роста ремонтного молодняка. Поэтому промышленное птицеводство остается приоритетным направлением экономической и социальной политики, направленным на удовлетворение спроса населения полноценными продуктами питания, усиление конкурентоспособности АПК и импортозамещения товаров животного происхождения [1].

Известно, что количество и качество молодняка в суточном возрасте, в значительной степени зависит от витального потенциала эмбриона. Витальный потенциал – это характеристика, которая определяет его адаптационные возможности, успешность развития и жизнеспособность особи. Для получения кондиционных и высоко жизнеспособных цыплят необходимо строго соблюдать требования к качеству инкубационного яйца, правила транспортировки, хранения и режимы инкубации [4]. Рядом исследователей выявлена прямая взаимосвязь между результативностью инкубации и реализацией воспроизводительных возможностей особи, а также её продуктивных качеств в дальнейшем онтогенезе [3].

Кондиционные особи характеризуются рядом показателей, среди них масса тела, температура, длина тела, внешний вид и мышечный тонус шеи и рефлекс переворота [2]. Для определения полноценности ремонтного молодняка также следует осуществлять оценку соотношения массы цыпленка к массе яйца. По данному показателю оценивают, насколько полно и своевременно эмбрион использовал питательные вещества инкубационного яйца [4]. Отклонение по данным показателям цыплят указывает на нарушение их развития в период инкубации. Как известно, искусственную инкубацию сопровождают различные факторы стресса, которые в совокупности определяют экстремальные условия развития эмбриона.

Многочисленные стресс-факторы, обусловленные условиями искусственной инкубации, негативно воздействуют на зародыши кур, качественно и количественно снижая результативность инкубации [1]. В этой связи не вызывает сомнений необходимость поиска наиболее эффективных, эконо-

мичных и лёгких в применении веществ, способных реализовывать разноплановые антистрессовые, а вместе с тем обменостабилизирующие свойства для формирования витального потенциала, а вместе с тем стимуляции эмбриогенеза кур [8, 9]. В данной работе рассматривается эффективность применения никотиламидадениндинуклеотида, важнейшего участника энергетических процессов, компенсаторных реакций, а также различных жизненно важных синтезов в организме животных [10].

Материалы и методы. Эксперимент осуществляли в ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина на базе кафедры химии имени профессоров С.И. Афонского, А.Г. Малахова с использованием инкубационных яиц, полученных от кур кросса «Хайсекс Браун», которые подбирали по 100 штук в партию по принципу аналогов: с учетом времени снесения, сроков и условий хранения и массы. Опытные обрабатывали однократно трансовариально растворами биостимулятора - никотиламидадениндинуклеотида перед инкубацией в диапазоне концентраций допустимых для предынкубационного введения, рекомендованных И.И. Кочишом и М.С. Найденским (2019 г.) [8, 6].

Показатели биоконтроля инкубации были изучены в соответствии с изданием Б.Ф. Бессарабова и коллектива авторов (2015) [4]. Этологические и экстерьерные показатели молодняка в суточном возрасте оценивали с использованием шкалы «Оптистарт +» по следующим маркерам: мышечный тонус (подъём головы в положении «провис головой вниз»), рефлекс переворота со спины на ноги, состояние пупочного кольца, клюва, живота, массу тела с точностью $\pm 0,1$ г, общую длину тела с точностью $\pm 0,1$ см и температуру тела с точностью $\pm 0,1^\circ\text{C}$. Учет результатов по шкале осуществляли в соответствии с методикой Т.С. Александровой (2014) [2]. Статистическую обработку данных проводили с помощью критерия Стьюдента с использованием программы Microsoft Excel 2022 г., при этом считали, что цифровые значения будут статистически значимые при $P < 0,05$, $P < 0,01$ и $P < 0,001$. Цифровую информацию после статистической обработки представляли в следующем формате: $M \pm m$, где M – это среднее значение, m – это ошибка среднего значения [5]. Возможность использования для расчётов именно этого метода в экспериментах, в том числе с птицей, при соблюдении всех классических правил его проведения, подтверждена рядом авторов, в том числе Кармолиевым Р.Х (1971) и Ефимовым В.М. (2025) [5, 7].

Результаты исследований и их обсуждение. Предынкубационная обработка растворами никотиламидадениндинуклеотида обусловила получение более качественного и жизнеспособного молодняка в широком диапазоне концентраций, что выразилось в увеличении живой массы молодняка в суточном возрасте из опытных групп: на 10,0% ($P < 0,01$) - в 1 -ой группе, на 12,63% ($P < 0,05$) - во 2 -ой, на 5,7% ($P < 0,05$) - в 3 -й и на 6,8% - в 4 –ой, соответственно, по сравнению с контролем. Статистически значимое повышение обсуждаемого показателя указывает на более эффективное потребление ограниченных ресурсов яйца и, вероятно, отсутствие их перерасхода в организме представителей из опытных групп, что играет важную роль в своевременном запуске (на 10-11 сутки инкубации) механизмов терморегуляции, становлении естественной резистентности, а вместе с тем витального потенциала и успешности процессов вылупления [3], заявленное частично нашло своё подтверждение в наших исследованиях. Полученные особи характеризовались также более высокой температурой тела под крылом на $1,1^\circ\text{C}$ ($P < 0,05$) - в 1 -ой группе, на $1,0^\circ\text{C}$ - во 2 -ой, на $1,2^\circ\text{C}$ ($P < 0,05$) - в 3 -й группе и на $1,0^\circ\text{C}$ - в 4 -й, соответственно (таблица 1) [8, 10].

Таблица 1 – Некоторые физиологические показатели цыплят суточного возраста, $n=10$

Показатели	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Опыт 4
Масса тела, г	38,00 $\pm$ 0,32	41,80 $\pm$ 0,66**	42,80 $\pm$ 0,58**	40,20 $\pm$ 0,66*	40,6 $\pm$ 1,50
Температура в клоаке, $^\circ\text{C}$	38,30 $\pm$ 0,43	39,42 $\pm$ 0,06*	39,34 $\pm$ 0,05	39,54 $\pm$ 0,05*	39,34 $\pm$ 0,05
Соотношение массы цыпленка к массе яйца, %	63,18 $\pm$ 1,36	70,22 $\pm$ 1,18*	72,06 $\pm$ 0,88***	68,68 $\pm$ 1,35*	68,31 $\pm$ 3,42

Примечание: *- $P < 0,05$, **- $P < 0,01$, ***- $P < 0,001$

Наряду с этим, после вылупления через 6 часов, был проведен анализ соотношения массы цыпленка к массе яйца, которое в контроле составило 63,2% против 70,2% ($P < 0,05$) - в 1-й группе, 72,1% ($P < 0,001$) - во 2-ой, 68,7% ($P < 0,05$) - в 3-ей, 68,3% в 4-ой в опытных группах, при нормативе от 71,0 до 72,0% [4]. Доказано, что интенсивность метаболизма, а вместе с тем рост и развитие эмбриона напрямую коррелирует с обсуждаемым показателем [4]. Наилучшие результаты по живой

массе и соотношению массы тела цыпленка к массе яйца были зарегистрированы во 2-ой группе, тогда, как по температуре тела – в 3-ей группе.

Более высокое качество полученного молодняка в суточном возрасте подтверждалось также увеличением совокупной балльной оценки по шкале «Оптистарт+»: в 1-ой опытной группе на 1,1 ($p<0,01$), во 2-ой на 1,0 ($p<0,05$), в 3-ей на 1,2 ($p<0,01$) и в 4-ой на 0,7 балла, соответственно, по сравнению с контролем (таблица 2) [2, с. 8]. Наивысший балл наблюдали в 3-ей опытной группе.

Таблица 2 – Качество цыплят в суточном возрасте по шкале «Оптистарт+», баллы, $n=10$

Показатель	Группа				
	Контрольная	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Опыт 4
Масса тела	0,70±0,15	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
Общая длина тела	0,70±0,15	0,90±0,10	1,00±0,00	1,00±0,00	0,90±0,10
Температура тела	0,80±0,13	0,90±0,10	0,90±0,10	0,90±0,10	0,80±0,13
Рефлекс переворота	0,90±0,13	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	0,80±0,13
Мышечный тонус шеи	0,60±0,16	0,90±0,10	0,80±0,13	0,90±0,10	0,80±0,13
Живот	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
Клюв	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
Пупочное кольцо	0,90±0,00	1,00±0,00	0,90±0,10	1,00±0,00	1,00±0,00
Клоака	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
Плюсны и пальцы	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
Критерий «Оптистарт +»	8,60±0,34	9,70±0,15*	9,60±0,16*	9,80±0,00**	9,30±0,33
Критерий «Оптистарт +», %	86,00	97,00	96,00	98,00	93,00

Примечание: *- $P<0,05$, **- $P<0,01$

При этом, важно отметить, что у цыплят в суточном возрасте из контрольной группы чаще констатировали «дефект пупочного кольца», что свидетельствует о нарушениях в процессе развития тонкого кишечника и желточного мешка. Также у некоторых особей «переворот со спины на ноги» занимал более 2 секунд, и не все особи активно поднимали голову из положения «провис головой вниз», что указывает на риски недостаточной зрелости у них нервной системы, тогда как представители из опытных групп, яйца которых были обработаны биостимулятором, имели преимущества по данным показателям, что подтверждает предположение о более качественном их развитии.

Анализируя данные таблицы 3, можно заключить, что более высокое качество получаемого молодняка в суточном возрасте сопровождалось более высокой эмбриональной жизнеспособностью, что выразилось в увеличении выводимости яиц и вывода цыплят в 1-ой группе на 7,3% и на 7,0%, во 2-ой на 4,2% и на 4,0%, в 3-ей на 9,5% и на 9,0%, в 4-ой на 3,8% и на 2,0%, соответственно, по сравнению с контролем.

Жизнеспособность эмбрионов из опытных групп по сравнению с контролем повысилась за счет уменьшения ряда категорий отходов инкубации, в частности, таких как: «кровяные кольца» в 1-ой, 2-ой и 4-ой группах равнозначно - в 1,5 раза, тогда как в 3-ей в 3 раза; «замершие на 5–10 сутки» в 1-ой – в 1,3 раза, во 2-ой и 4-ой аналогично – в 1,1 раза, в 3-ей - в 1,6 раза; «слабые» равнозначно на 1,0 % во всех группах, соответственно; количество «неоплодотворенных» и «замерших на 11-18 сутки» уменьшилось только в 3-ей группе в 1,3 раза; процент «задохликов» снизился в 3-ей и 4-ой группах в 1,3 раза, соответственно. Наиболее значимое снижение всех выше перечисленных категорий отходов инкубации наблюдали в 3 группе.

Таблица 3 – Показатели биоконтроля инкубации, %, n=100

Группа	Категории отходов инкубации							Выводимость яиц, %	±Δ	Вывод цыплят, %	±Δ
	Неоплод (в т. ч. ложный)	Кровяные кольца	Тумак	Замёршие 5-10 сут.	Замёршие 11-18 сут.	Задохлики	Слабые				
Кон- троль	4,00± 1,96	3,00± 1,71	-	8,00± 2,71	4,00 ± 1,96	4,00 ± 1,96	1,00± 0,99	79,17± 4,06	-	76,00± 4,72	-
Опыт 1	4,00± 1,96	2,00± 1,40	-	6,00± 2,30	2,00± 1,40	3,00± 1,71	-	86,50± 4,40	+7,30	83,00± 3,80	+7,00
Опыт 2	4,00± 1,90	2,00± 1,40	-	7,00± 2,50	4,00± 1,96	3,00± 1,71	-	83,30± 3,70	+4,20	80,00± 4,00	+4,00
Опыт 3	3,0± 1,71	1,00 ± 0,99	-	4,00± 2,20	3,00± 1,71	3,00± 1,70	-	88,66± 3,17	+9,50	86,00± 3,47	+9,00
Опыт 4	6,00± 2,30	2,00 ± 1,40	-	7,00± 2,50	4,00± 1,96	3,00± 1,71	-	82,90± 3,80	+3,80	78,00± 4,10	+2,00

Закключение. Получены данные, указывают на то, что однократная обработка инкубационных яиц кур растворами никотиамидадениндинуклеотида в широком диапазоне концентраций определила условия для повышения витального потенциала молодняка кур, что обусловило рост эмбриональной жизнеспособности (вывод цыплят и выводимость яиц превосходили контроль в 1-ой группе на 7,3% и на 7,0%, во 2-ой на 4,2% и на 4,0%, в 3-ей на 9,5% и на 9,0%, в 4-ой на 3,8% и на 2,0%, соответственно), а также повышение живой массы, температуры тела, оптимизацию соотношения массы тела цыплёнка к массе яйца, а вместе с тем увеличение совокупной оценки по шкале «Оптистарт +»: в 1-ой опытной группе на 1,1 (p<0,01), во 2-ой на 1,0 (p<0,05), в 3-ей на 1,2 (p<0,01) и в 4-ой на 0,7 балла. Наилучшие результаты по совокупности представленных в статье показателей, были получены в 3-ей опытной группе. Получение позитивных результатов во всех представленных в работе группах, свидетельствует о перспективности использования и высокой биологической активности изучаемого естественного метаболита.

Список источников

1. Азарнова, Т.О. Профилактика окислительного стресса, как способ повышения естественной резистентности цыплят / Т.О. Азарнова, А.Е. Бобылькова, И.С. Ярцева // Ветеринария и кормление. – 2013. – № 1. – С. 34–35.
2. Александрова, Т.С. Совершенствование оценки и технологических приёмов выращивания цыплят-бройлеров (06.02.05, 03.01.04): диссертация кандидата биологических наук/ Ставропольский государственный аграрный университет. – Ставрополь, 2014. – 23 с.
3. Дорофеев, В.Р. Эффективность применения перманганата калия в процессе инкубации / В.Р. Дорофеев, В.Н. Хаустов // Птица и птицепродукты. – 2011. – №6. – С. 56–58.
4. Епимахова, Е. Э. Связь категорий отходов инкубации яиц кур с выводом цыплят / Е. Э. Епимахова, А. Е. Бояринов, А. В. Врана // Птицеводство. – 2025. – № 6. – С. 64-68. – DOI 10.33845/0033-3239-2025-74-6-64-68.
5. Ефимов, В. М. Как считать критерий Стьюдента статистической значимости разности средних двух выборок. Проверка нормальности / В. М. Ефимов // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2025. – Т. 11, № 1. – С. 43-50.
6. Казакова, Л. А. Применение Окси Клин для прединкубационной обработки яиц перепелов / Л. А. Казакова, О. В. Мясникова // Ветеринария, зоотехния, биотехнология и продовольственная безопасность - Молодежь, Наука, Инновации в условиях современного мира: Материалы Региональ-

ной студенческой научно-практической конференции, Москва, 17–18 октября 2024 года. – Москва: Академия Принт, 2024. – С. 395–398.

7. Кармолиев, Р. Х. Современные биохимические методы исследования в ветеринарии и зоотехнии / Р. Х. Кармолиев; Под ред. проф. С. И. Афонского. - Москва : Колос. - 1971. - 288 с.
8. Кочиш, И. И. Повышение стрессоустойчивости молодняка кур яичного кросса при использовании биологически активных веществ перед инкубацией / Кочиш И. И., Луговая И. С., Азарнова Т. О., Найденский М. С., Антипов А. А., Петрова Ю. В., Аншаков Д. В., Золотухина Е. А. // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2020. – № 1. – С. 491–495.
9. Монстакова, Т.В. Роль оптимизации метаболических процессов в системе снижения отходов инкубации / Т.В. Монстакова, Т.О. Азарнова, И.И. Кочиш // Птицеводство. – 2020. – № 7–8. – С. 44–50.
10. Fang J., NAD⁺ metabolism-based immunoregulation and therapeutic potential/ Fang J, Chen W, Hou P, Liu Z, Zuo M, Liu S, Feng C, Han Y, Li P, Shi Y, Shao C. //Cell & Bioscience. – 2023. – Т. 13. – №. 1. – С. 81.

References

1. Azarnova, T.O. Prevention of oxidative stress as a way to increase the natural resistance of chickens / T.O. Azarnova, A.E. Bobylkova, I.S. Yartseva // Veterinary medicine and feeding. – 2013. – No. 1. – Pp. 34–35.
2. Aleksandrova, T.S. Improvement of the assessment and technological methods of growing broiler chickens (06.02.05, 03.01.04): dissertation ... Candidate of Biological Sciences/ Stavropol State Agrarian University. – Stavropol, 2014. – 23 p.
3. Dorofeev, V.R. The Effectiveness of Potassium Permanganate in the Incubation Process / V.R. Dorofeev and V.N. Khaustov // Poultry and Poultry Products. – 2011. – No. 6. – Pp. 56–58.
4. Epimakhova, E. E. Relationship of categories of waste from incubation of chicken eggs with hatching of chicks / E. E. Epimakhova, A. E. Boyarinov, A. V. Vrana // Poultry Farming. – 2025. – No. 6. – Pp. 64–68. – DOI 10.33845/0033-3239-2025-74-6-64-68. – EDN ZSVKZR.
5. Efimov, V. M. How to Calculate the Student's Test for the Statistical Significance of the Difference in Means of Two Samples. Checking for Normality / V. M. Efimov // Letters to the Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2025. – Vol. 11, No. 1. – Pp. 43–50.
6. Kazakova, L. A. Application of Oxy Klin for Pre-Incubation Treatment of Quail Eggs / L. A. Kazakova, O. V. Myasnikova // Veterinary Medicine, Animal Husbandry, Biotechnology, and Food Security - Youth, Science, and Innovation in the Modern World: Proceedings of the Regional Student Scientific and Practical Conference, Moscow, October 17-18, 2024. - Moscow: Akademiya Print, 2024, pp. 395–398.
7. Karmolyev, R. Kh. Modern biochemical research methods in veterinary medicine and animal husbandry / R. Kh. Karmolyev; Edited by Prof. S. I. Afonsky. - Moscow: Kolos, 1971. - 288 p.
8. Kochish, I. I. Improving the stress resistance of young hens of an egg-laying cross by using biologically active substances before incubation / Kochish I. I., Lugovaya I. S., Azarnova T. O., Naidenovskiy M. S., Antipov A. A., Petrova Yu. V., Anshakov D. V., Zolotukhina E. A. // Reports of the Russian Academy of Sciences. Life Sciences. – 2020. – No. 1. – Pp. 491–495.
9. Monstakova, T.V. The Role of Optimizing Metabolic Processes in the System of Reducing Incubation Waste / T.V. Monstakova, T.O. Azarnova, I.I. Kochish // Poultry Farming. – 2020. – No. 7–8. – Pp. 44–50.
10. Fang J., NAD⁺ metabolism-based immunoregulation and therapeutic potential/ Fang J, Chen W, Hou P, Liu Z, Zuo M, Liu S, Feng C, Han Y, Li P, Shi Y, Shao C. //Cell & Bioscience. – 2023. – Т. 13. – №. 1. – С. 81.

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 27.02.2026;

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 125 – 135
The Veterinarian. 2026; (2): 125 – 135

Научная статья

УДК 619:578.831.31:578.52

DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_125

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММОВ ВИРУСА ПАРАГРИППА-3 КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ильсияр Габделгазизовна Каримуллина¹, кандидат биологических наук, 89047699225@mail.ru

Ринат Салаватович Мухаммадиев¹, кандидат биологических наук, tanirtashir@mail.ru

Айнур Ильнурович Яруллин¹, кандидат биологических наук, abii@mail.ru

Ришат Салаватович Мухаммадиев¹, кандидат биологических наук, tashir9891@mail.ru

Гульнара Ильдусовна Хусаинова¹, кандидат биологических наук, vnivi@mail.ru

Ильшат Рафаилович Фазулзянов¹, кандидат биологических наук, fazulrif@mail.ru

Сергей Александрович Шеметюк², кандидат биологических наук, shemetyuk_sa@kursksau.ru

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

² Курский государственный аграрный университет имени И.И. Иванова, Курская биофабрика, Курск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Ильсияр Габделгазизовна Каримуллина.

Аннотация. В работе представлены результаты комплексного исследования по определению и оптимизации биотехнологических параметров культивирования штаммов вируса парагриппа-3 (ПГ-3) крупного рогатого скота («ПТК-45/86», «ТМ-50», «SF-4») с целью получения высокоактивного вирусного сырья. Проведен детальный анализ биологических и физико-химических свойств используемых агентов, подтвердивший стабильность их инфекционных характеристик и полное соответствие таксономическим критериям семейства *Paramyxoviridae*. На основании сравнительной оценки чувствительности различных клеточных систем (ВНК-21/13, ЛЭК, ПТ-80 и МДБК) научно обосновано преимущество использования гомологичных линий почечного и легочного происхождения. В качестве наиболее эффективной клеточной модели для промышленной репродукции вируса определена перевиваемая линия ПТ-80, на которой отмечено статистически значимое повышение инфекционной активности вакцинного штамма «ПТК-45/86» к пятому пассажу. Экспериментально доказано, что использование роллерного способа культивирования в сочетании с оптимизированной питательной средой на основе синтетических основ МЕМ и 199 с добавлением 30% гидролизата лактальбумина обеспечивает относительное увеличение инфекционной активности штаммов ПГ-3 в диапазоне 20,3-22,9% относительно стационарного контроля. Это позволяет достичь высоких показателей накопления вирионов в интервале 6,58-8,16 lg ТЦД₅₀/мл. В ходе выполнения работы установлены оптимальные технологические параметры процесса накопления вируса: эффективная инфицирующая доза в диапазоне 3,0-4,0 lg ТЦД₅₀/мл, посевная концентрация клеточного субстрата 110-120 тыс. кл/мл и общая продолжительность инкубирования в течение 120-144 часов. Результаты исследования служат научно-практическим обоснованием для разработки импортозамещающей высокоэффективной вакцины против парагриппа-3 крупного рогатого скота, обеспечивая стабильность антигенного состава и высокую иммуногенность препарата.

Ключевые слова: вирус ПГ-3 КРС, штаммы, клеточная линия ПТ-80, роллерное культивирование, питательная среда, инфекционная активность

Для цитирования: Каримуллина И.Г., Яруллин А.И., Мухаммадиев Рин.С., Мухаммадиев Риш.С., Хусаинова Г.И., Фазулзянов И.Р., Шеметюк С.А.. Определение оптимальных биотехнологических параметров культивирования штаммов вируса парагриппа-3 крупного рогатого СКОТА// Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 125 – 135. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_125

DETERMINATION OF OPTIMAL BIOTECHNOLOGICAL PARAMETERS FOR THE CULTIVATION OF BOVINE PARAINFLUENZA-3 VIRUS STRAINS

Ilsiyar G. Karimullina¹, candidate of biological sciences, 89047699225@mail.ru
 Rinat S. Mukhammadiev¹, candidate of biological sciences, tanirtashir@mail.ru
 Ainur I. Yarullin¹, candidate of biological sciences, abii@mail.ru
 Rishat S. Mukhammadiev¹, candidate of biological sciences, tashir9891@mail.ru
 Gulnara I. Khusainova¹, candidate of biological sciences, vnivi@mail.ru
 Ilshat R. Fazulzyanov¹, candidate of biological sciences, fazulrif@mail.ru
 Sergey A. Shemetyuk², candidate of biological sciences, shemetyuk_sa@kursksau.ru

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

² Kursk State Agrarian University named after I.I. Ivanov, Kursk Biofactory, Russian Federation

Corresponding author: Ilsiyyar Gabdelgazizovna Karimullina.

Abstract. The paper presents the results of a comprehensive study on the determination and optimization of biotechnological parameters for the cultivation of bovine parainfluenza-3 (PI-3) virus strains ("PTK-45/86", "TM-50", "SF-4") to obtain high-activity viral raw materials. A detailed analysis of the biological and physicochemical properties of the agents was carried out, confirming the stability of their infectious characteristics and full compliance with the taxonomic criteria of the *Paramyxoviridae* family. Based on a comparative evaluation of the sensitivity of various cell systems (BHK-21/13, LEC, PT-80, and MDBK), the advantage of using homologous lines of renal and pulmonary origin was scientifically substantiated. The continuous cell line PT-80 was identified as the most effective cell model for industrial virus reproduction, showing a statistically significant increase in the infectious activity of the vaccine strain "PTK-45/86" by the fifth passage. It has been experimentally proven that the use of the roller culture method in combination with an optimized nutrient medium based on a combination of MEM and 199 synthetic bases with the addition of 30% lactalbumin hydrolysate provides a relative increase in the infectious activity of PI-3 strains in the range of 20.3-22.9% compared to stationary control. This allows achieving high rates of virion accumulation in the range of 6.58-8.16 log TCID₅₀/mL. During the study, optimal technological parameters of the process were established: an infectious virus dose of 3.0-4.0 log TCID₅₀/mL, a seeding concentration of the cell substrate of 110-120 thousand cells/mL, and a total incubation period of 120-144 hours. The results obtained provide a scientific and practical basis for the development of a highly effective new-generation vaccine against bovine parainfluenza-3, ensuring stable antigenic composition and high immunogenicity of the preparation.

Keywords: bovine PI-3 virus, strains, PT-80 cell line, roller cultivation, nutrient medium, infectious activity

Введение. Обеспечение высокой рентабельности современного промышленного животноводства неразрывно связано с вопросами эффективного сохранения поголовья и достижением высоких показателей выживаемости молодняка крупного рогатого скота (КРС) [1, 2]. В структуре общей патологии телят основную проблему представляют заболевания респираторно-кишечного тракта. Экономический ущерб от данных болезней носит комплексный характер [2, 3]: он обусловлен не только прямыми потерями от падежа и снижением темпов роста животных, но и значительными затратами на ветеринарные препараты, а также долгосрочным падением продуктивного потенциала переболевших особей.

Серьезность указанных последствий требует глубокого анализа факторов возникновения болезней, природа которых чаще всего является смешанной [1, 4]. Ключевым звеном в инициации инфекционного процесса выступают вирусные агенты, среди которых особое место занимает парагрипп-3 (ПГ-3) [5]. В условиях интенсификации производства, характеризующейся высокой концентрацией поголовья на ограниченных площадях и постоянным воздействием технологических стресс-факторов, происходит резкое снижение иммунобиологической реактивности организма телят [6, 7]. Подобный иммунодефицитный фон способствует не только активации патогена, но и стремительному росту его вирулентности [8]. В результате формируются условия для возникновения массовых эпизоотических вспышек, способных в короткие сроки охватывать до 80-100% восприимчивого поголовья.

Биологическая уникальность возбудителя ПГ-3 определяется его принадлежностью к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* [9]. Наличие специфических поверхностных глико-

протеинов обуславливает его высокую адсорбционную активность и селективное сродство (тропизм) к эпителиальным клеткам органов дыхания [5, 7]. Проникая в респираторный тракт, вирус вызывает деструкцию мерцательного эпителия и подавляет активность альвеолярных макрофагов. Такое глубокое поражение местной защиты, манифестирующее в форме острого катарального воспаления у телят 10-20-суточного возраста, создает «входные ворота» для вторичной микрофлоры, что существенно утяжеляет течение болезни [3, 4]. В этой связи разработка и совершенствование средств специфической профилактики на основе высокоактивных штаммов вируса остается одной из наиболее актуальных задач ветеринарной биопромышленности.

Изготовление качественных вакцинных препаратов требует высокой технологичности процессов накопления вирусной биомассы *in vitro* [1, 3]. В промышленной практике особую эффективность демонстрирует роллерный способ культивирования в круговом монослое [10]. Данный метод позволяет интенсивно наращивать клеточную массу на ограниченных площадях, создавая оптимальный биологический субстрат для последующей репродукции вируса. Однако достижение максимальных инфекционных титров возбудителя в такой системе напрямую зависит от тщательного подбора технологических режимов выращивания, адаптированных под биологические особенности конкретной линии клеток. Особую научно-практическую ценность при этом представляет сравнительная оценка продуктивности используемых клеточных систем при репродукции штаммов вируса ПГ-3, обладающих различными биологическими характеристиками.

Цель исследования заключалась в оптимизации технологических параметров культивирования чувствительных клеточных линий для получения вирусной биомассы парагриппа-3 КРС с высокой антигенной активностью на основе сравнительного изучения репродуктивных свойств различных штаммов возбудителя.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования выполнены с использованием штаммов вируса парагриппа-3 (ПГ-3) крупного рогатого скота: вакцинного «ПТК-45/86», эпизоотического «ТМ-50» и референтного «SF-4», депонированных в Государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Работа с вирусосодержащим материалом, включая условия его хранения и пассирования, осуществлялась в соответствии с требованиями биологической безопасности согласно СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

В качестве клеточных субстратов для репродукции вируса использовали перевиваемые линии почки сирийского хомячка (ВНК-21/13), эпителия легкого эмбриона коровы (ЛЭК), почки теленка (ПТ-80) и почки быка (МДБК). Клеточный материал восстанавливали из криоконсервированного состояния (жидкий азот, минус 196 °С) согласно ГОСТ Р ИСО 24603-2024 «Биотехнологии. Биобанкинг. Требования к культурам клеток млекопитающих и человека». Контроль генетической идентичности используемых линий подтверждали в соответствии с требованиями ОФС.1.7.2.0011.15 «Требования к клеточным культурам – субстратам производства биологических лекарственных препаратов». Проверку биологической чистоты и отсутствие контаминации микоплазмами осуществляли согласно ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность» и ОФС.1.7.2.0031.15 «Испытание вирусных вакцин на чистоту от посторонних агентов». Оценку жизнеспособности клеток в процессе пассирования проводили в камере Горяева в тесте на исключение трипанового синего согласно ГОСТ Р 51758-2001 «Среды питательные для ветеринарных целей. Методы биологических испытаний».

Для обеспечения формирования полноценного клеточного монослоя и последующей репродукции вируса применили жидкие питательные среды 199, Игла MEM (pH 7,5–7,6) и 0,5%-й гидролизат лактальбумина [12]. Стерилизацию сред проводили методом мембранной фильтрации (размер пор фильтра 0,22 мкм). Ростовые среды обогащали 10% нативной сывороткой крови КРС, предварительно инактивированной при 56 °С в течение 30 минут и проверенной на отсутствие специфических антител к ПГ-3. В состав готовых сред вводили 1% L-глутамин и сульфат гентамицина в конечной концентрации 50 мкг/мл. Перед инокуляцией вируса подготовку монослоя осуществляли путем его двукратной промывки раствором Хенкса, подогретым до 37 °С. Поддерживающие среды имели аналогичный состав без добавления сывороточного компонента для исключения его влияния на адсорбцию вируса.

С целью повышения выхода вирусного материала при роллерном способе культивирования разработали и протестировали пять рецептов поддерживающих сред. Первая рецептура (сбалансированная) включала 40% ГЛА, 50% MEM и 10% среды 199. Вторая рецептура (высоконутриентная) состояла из 30% ГЛА, 50% MEM и 20% среды 199. Третья рецептура обеспечивала повышенное содержание пуриновых и пиримидиновых оснований за счет использования смеси 30% ГЛА и 70% среды 199. Четвертая рецептура (метаболическая) включала 20% ГЛА и

80% MEM для стимуляции синтеза вирусной РНК. Пятая рецептура (адаптационная) представляла собой сочетание 10% ГЛА и 80% MEM с добавлением 10% пептонного обогатителя для стабилизации вируса. Для сравнительной оценки эффективности разработанных рецептов накопление вируса проводили параллельно двумя методами: стационарным (в матрасах объемом 1500 мл) и роллерным (в бутылках объемом 2500 мл). При роллерном способе использовали промышленную установку с режимом вращения 6-12 оборотов в час.

Комплексное изучение биологических и физико-химических свойств штаммов проводили по стандартным вирусологическим методикам в соответствии с «Методическими указаниями по лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота» [11]. Генетический тип нуклеиновой кислоты подтверждали в тесте на чувствительность к 5-бромдезоксисуридину (5-БДУ) в конечной концентрации 50 мкг/мл. Наличие липопротеидной оболочки устанавливали по устойчивости вирусных частиц к воздействию этилового эфира (20%) и хлороформа (5%). Термостабильность вируса оценивали по результатам экспозиции при температуре 56 °С. Устойчивость к факторам внешней среды изучали в интервале значений pH от 3,0 до 8,0 с последующей нейтрализацией проб и расчетом остаточной инфекционной активности.

Гемагглютинирующую способность штаммов исследовали в реакции гемагглютинации (РГА) с использованием 1,0% взвеси эритроцитов крупного рогатого скота, барана, кролика и морской свинки. Гемадсорбирующие свойства оценивали в реакции гемадсорбции (РГАдс) визуальным по четырехбалльной шкале непосредственно в инфицированном клеточном монослое.

Оценку чувствительности клеточных линий к вирусу проводили в динамике 1-го и 5-го последовательных пассажей при посевной концентрации 200 тыс. клеток на 1 мл среды [10]. Сформированный трехсуточный монослой инфицировали штаммами вируса и выдерживали в CO₂-инкубаторе (5% CO₂, температура 37 °С) до появления характерных цитопатических изменений. Регистрацию развития цитопатического действия (ЦПД) осуществляли ежедневно методом световой микроскопии, используя полуколичественную шкалу: от «–» (отсутствие изменений) до «++++» (деструкция 75-100% монослоя). При поражении 75-80% монослоя клетки разрушали методом однократного замораживания (при минус 20 °С)-оттаивания для высвобождения вирусных частиц.

Инфекционную активность определяли методом микротитрования на 96-луночных планшетах по четыре параллельные пробы для каждого десятикратного разведения. Расчет титров проводили по методу Рида и Менча в модификации И. П. Ашмарина, что соответствует регламенту вышеуказанных «Методических указаний...» [11]. Результаты выражали в десятичных логарифмах 50%-х тканевых цитопатогенных доз (lg ТЦД₅₀/мл).

Относительную эффективность роллерного способа культивирования (Е, %) по отношению к стационарному контролю рассчитывали по формуле [13]:

$$E = \frac{T_{\text{ролл}} - T_{\text{стац}}}{T_{\text{стац}}} \times 100, \text{ где:}$$

Е – показатель относительной эффективности роллерного способа, %;

Тролл – инфекционная активность штамма при роллерном способе культивирования, lg ТЦД₅₀/мл;

Тстац – инфекционная активность штамма при стационарном способе культивирования (контроль), lg ТЦД₅₀/мл

Статистическую обработку результатов осуществляли в программах Microsoft Excel 2013 («Windows», США) и Statistica 12.0 («StatSoft Inc.», США). Для проверки нормальности распределения выборок использовали критерий Шапиро-Уилка. Для оценки влияния компонентного состава питательных сред и сравнительного анализа чувствительности клеточных систем применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Оценку значимости различий показателей на разных уровнях пассирования, а также при сравнении стационарного и роллерного способов культивирования проводили с использованием t-критерия Стьюдента. В случаях, не отвечающих критериям нормального распределения, проверку гипотез осуществляли с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при уровне вероятности ошибки $p \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. На начальном этапе исследований проведено комплексное изучение биологических и физико-химических свойств штаммов вируса ПГ-3 крупного рогатого скота: вакцинного «ПТК-45/86», эпизоотического «ТМ-50» и референтного «SF-4». Сравнительный анализ ключевых фенотипических признаков депонированных вирусных агентов позволил

подтвердить стабильность их свойств и соответствие таксономическим критериям семейства *Paramyxoviridae* (таблица 1).

В ходе первичной оценки инфекционной активности в культуре клеток установлено, что все исследуемые агенты обладают высоким репродуктивным потенциалом, варьирующим в пределах 6,5-7,25 lg ТЦД₅₀/мл. Наиболее высокие показатели накопления отмечены у референтного штамма «SF-4». Полученные уровни титров являются достаточными для использования данных штаммов в биотехнологических процессах получения высокоактивного вирусного сырья, что критически важно для обеспечения антигенной нагрузки при производстве вакцин.

При идентификации типа нуклеиновой кислоты выявлено, что в присутствии ингибитора синтеза ДНК (5-БДУ) инфекционная активность штаммов снижалась незначительно – в среднем на 0,25 lg ТЦД₅₀/мл. Отсутствие такого выраженного подавления репродукции подтверждает РНК-природу генома исследуемых объектов. В отличие от типичных ДНК-содержащих вирусов, репродукция которых значительно ингибируется данным аналогом тимидина вследствие нарушения синтеза дочерних цепей нуклеиновой кислоты, РНК-геномные вирусы (за исключением ретровирусов) сохраняют стабильность репликации в данных условиях [14]. Это указывает о генетической однородности штаммов ПГ-3 и отсутствии посторонних ДНК-содержащих контаминантов, что соответствует требованиям к чистоте вакцинных штаммов при разработке биопрепаратов.

Изучение чувствительности вирусных агентов к липидным растворителям (этиловому эфиру и хлороформу) показало полную потерю инфекционности всех штаммов. С биохимической точки зрения этот факт экспериментально доказывает наличие в структуре инфекционного агента внешней липопротеидной суперкапсидной оболочки, разрушение которой под действием неполярных растворителей ведет к необратимой деградации вириона и утрате его способности к адсорбции на клетках. Аналогичная лабильность установлена при температурном воздействии (56 °С) и воздействии кислой среды (рН 3,0).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика биологических и физико-химических свойств штаммов вируса ПГ-3

Показатели	Единица измерений	Штамм «ЛТК-45/86»	Штамм «ТМ-50»	Штамм «SF-4»
Инфекционная активность на культуре клеток	lg ТЦД ₅₀ /мл	7,0	6,5	7,25
Репродукция в присутствии 5-БДУ	lg ТЦД ₅₀ /мл	6,75	6,25	7,0
Чувствительность к этиловому эфиру (20%)	lg ТЦД ₅₀ /мл	0	0	0
Чувствительность к хлороформу (5%)	lg ТЦД ₅₀ /мл	0	0	0
Время инаktivации при 56 °С	мин	30	30	30
Чувствительность к активной кислотности среды: рН 8,0 рН 5,0 рН 3,0	lg ТЦД ₅₀ /мл	6,75 5,25 1,5	6,25 4,5 0,5	7,0 5,5 1,5
Гемагглютинирующая активность (РГА): КРС барана кролика морской сви- ки	титр	1:8 1:4 1:4 1:16	1:8 1:4 1:4 1:16	1:16 1:4 1:4 1:64
Гемадсорбирующие свойства (РГАдс): КРС барана кролика морской сви- ки	балл (+)	+++ ++ ++ ++++	+++ ++ + ++++	+++ ++ ++ ++++

Потеря активности в данных условиях можно объяснить необратимой конформационной перестройкой поверхностных гликопротеинов – белков слияния (F) и гемагглютинин-нейраминидазы (HN). Сохранность нативной структуры этих белков принципиально важна для индукции полноцен-

ного иммунного ответа у вакцинированных животных, поэтому поддержание оптимального уровня pH и соблюдение температурного режима в процессе культивирования являются ключевыми факторами сохранения антигенной полноценности вакцины.

Анализ антигенных характеристик выявил выраженную способность штаммов агглютинировать и адсорбировать эритроциты морской свинки (интенсивность РГАдс – 4 балла). Это обусловлено, по-видимому, специфическим сродством белка HN к сиаловым рецепторам данных клеток. Тот факт, что референтный штамм «SF-4» превосходил по этим показателям вакцинный и эпизоотический варианты, может свидетельствовать о более высокой плотности гликопротеиновых «шипов» на его оболочке. В целом, высокая avidность штамма «SF-4», а также характерная диффузная агглютинация эритроцитов других видов животных (КРС, барана, кролика), подтверждают биологическую типичность и антигенную полноценность всех изученных штаммов. Высокие показатели гемагглютинирующей активности и выраженность гемадсорбции (4 балла) косвенно указывают на высокий иммуногенный потенциал штаммов, что делает их перспективными для использования в качестве производственных антигенов.

Обеспечение сохранности нативной конформации протективных антигенов (гликопротеинов F и HN) требует не только строгого соблюдения температурного режима на всех этапах технологического цикла, но и эффективной стабилизации концентрации водородных ионов питательной среды в процессе культивирования [14, 15]. Совокупность выявленных характеристик позволяет гарантировать стабильно высокую антигенную нагрузку и генетическую чистоту вирусного сырья, что является фундаментальным условием для конструирования высокоэффективных средств специфической профилактики парагриппа-3 крупного рогатого скота.

На следующем этапе исследований проведена сравнительная оценка чувствительности различных клеточных систем в отношении изученных штаммов. В эксперимент были включены перевиваемые линии ВНК-21/13, ЛЭК, ПТ-80 и МДБК, традиционно используемые в биофармацевтической промышленности для культивирования вирусных агентов и получения гомогенного вирусосодержащего материала (таблица 2).

Таблица 2 – Инфекционная активность штаммов вируса ПГ-3 КРС на различных уровнях пассирования в перевиваемых клеточных линиях

Культура клеток	Активность штамма, lg ТЦД ₅₀ /мл (M±m)					
	«ПТК-45/86»		«ТМ-50»		«SF-4»	
	1 пассаж	5 пассаж	1 пассаж	5 пассаж	1 пассаж	5 пассаж
ВНК-21/13	6,51±0,13	6,45±0,14	5,66±0,15	5,78±0,22	6,30±0,26	7,21±0,15*
ЛЭК	6,75±0,22	7,17±0,20*	5,73±0,15	6,31±0,30*	7,06±0,34	7,30±0,18
ПТ-80	6,65±0,19	7,28±0,17*	6,61±0,18	6,69±0,28	6,62±0,15	7,52±0,13*
МДБК	6,75±0,23	6,80±0,15	6,87±0,15	6,88±0,17	6,54±0,24	7,20±0,19*

Примечание: * – Различия статистически значимы по сравнению с показателями 1-го пассажа ($p \leq 0,05$)

Анализ экспериментальных данных, представленных в таблице 2, свидетельствует о том, что все изученные клеточные системы поддерживают активное размножение вируса, что подтверждается выраженным цитопатическим действием (ЦПД) и стабильным накоплением вирионов в культуральной среде. Характер проявления ЦПД во всех случаях был типичным для парамиксовирусов и сопровождался округлением клеток, формированием поликарионов (симпластов) и последующей деструкцией монослоя. Наиболее высокие показатели накопления во всем спектре клеточных культур отмечены у референтного штамма «SF-4», титры которого к пятому пассажу достигали значений 7,20-7,52 lg ТЦД₅₀/мл. Столь высокий репродуктивный потенциал референтного штамма, по-видимому, объясняется его адаптацией к условиям *in vitro*, достигнутой в процессе длительного пассирования. Особое внимание в ходе работы уделено динамике накопления вакцинного штамма «ПТК-45/86», который является основой для производства специфических средств профилактики. Установлено, что данный штамм характеризуется высокой адаптивностью к клеткам почечного происхождения. В частности, при культивировании на линии ПТ-80 отмечен рост инфекционной активности с 6,65±0,19 до 7,28±0,17 lg ТЦД₅₀/мл к пятому пассажу. Аналогичная тенденция наблюдалась на линии ЛЭК (повышение титра до 7,17±0,20 lg). Данный факт свидетельствует о выраженном сродстве вакцинного штамма к эпителиоподобным клеткам гомологичного происхождения (крупного рогатого скота), что позволяет рассматривать эти линии как приоритетные субстраты для получения вирусного сырья. В

то же время на гетерологичной линии ВНК-21/13 титр штамма «ПТК-45/86» оставался стабильным, но без выраженной динамики роста (6,45-6,51 lg ТЦД₅₀/мл), что может указывать на менее эффективное взаимодействие вируса с клеточными рецепторами иного вида животных по сравнению с линиями ПТ-80 и ЛЭК.

Сравнительный анализ динамики репродукции штаммов ПГ-3 в различных клеточных системах позволяет выявить ряд закономерностей, имеющих фундаментальное и прикладное значение. Более интенсивная репродукция вируса в гомологичных линиях (ПТ-80, ЛЭК, МДБК) по сравнению с гетерологичной линией (ВНК-21/13) находит объяснение в механизме адсорбции вириона. Известно [15], что ключевым этапом инфицирования является взаимодействие вирусного гликопротеина HN с сиаалоспецифическими рецепторами на поверхности клетки. Использование клеточных линий, происходящих от тканей крупного рогатого скота, по-видимому, обеспечивает наличие специфических рецепторов в количестве, достаточном для эффективной адсорбции вируса, что коррелирует с более высокими темпами накопления инфекционных единиц. Важной закономерностью, установленной в ходе исследования, стала постепенная адаптация штамма «ПТК-45/86» к линиям ПТ-80 и ЛЭК. Увеличение инфекционного титра штамма «ПТК-45/86» к пятому пассажу указывает о его успешной адаптации к данным клеточным линиям. Для вакцинного штамма такая стабильная динамика является важным показателем, гарантирующим сохранение антигенной активности при производстве биопрепаратов.

Снижение репродуктивного потенциала эпизоотического штамма «ТМ-50» в линиях ВНК-21/13 и ЛЭК подтверждает высокую специфичность «полевых» изолятов. В отличие от адаптированных лабораторных штаммов, «ТМ-50» сохраняет выраженный тропизм к клеткам почки быка, что необходимо учитывать при выборе субстрата для выделения возбудителя из патологического материала. Выбор линии ПТ-80 в качестве базовой модели обусловлен не только высокими титрами всех изученных штаммов, но и её технологичностью. Быстрое формирование плотного монослоя в сочетании с выраженным ЦПД позволяет сократить цикл культивирования, что способствует получению качественного вирусного сырья с высокими показателями инфекционной активности. Таким образом, установленные различия в чувствительности клеточных линий детерминированы как происхождением самих клеток, так и степенью адаптации конкретного штамма вируса к условиям *in vitro*.

Дальнейшие исследования были направлены на определение оптимального компонентного состава поддерживающих сред и выбор эффективного метода культивирования на отобранной линии клеток ПТ-80. Сравнительная оценка пяти разработанных рецептов при стационарном и роллерном способах выращивания штаммов ПГ-3 позволила установить выраженную зависимость накопления вируса от питательной ценности среды и физических условий процесса. Согласно данным, представленным в таблице 3, применение роллерного метода во всех экспериментальных вариантах обеспечивало стабильно более высокие показатели инфекционной активности по сравнению со стационарным культивированием.

Таблица 3 – Инфекционная активность вируса ПГ-3 в зависимости от состава сред и способа культивирования (линия ПТ-80)

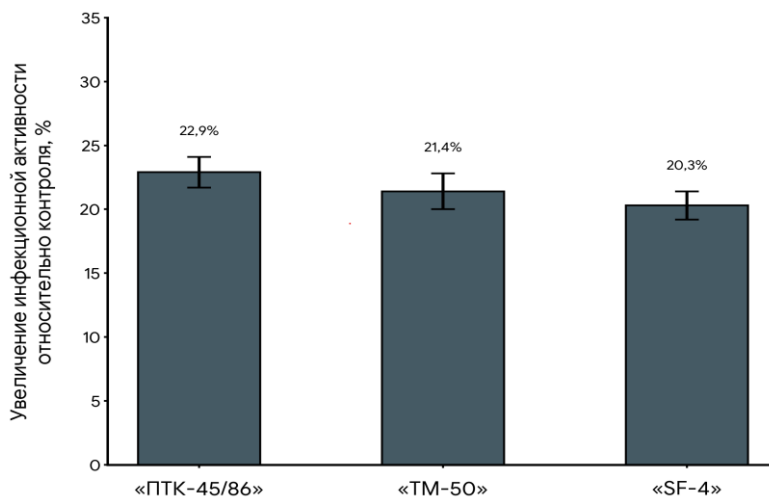
Рецептура поддерживающей среды (состав)	Способ культивирования	Время макс. накопления, ч	Активность штамма, lg ТЦД ₅₀ /мл (M±m)		
			«ПТК-45/86»	«ТМ-50»	«SF-4»
№1 (40% ГЛА, 50% MEM, 10% 199)	Стационарный	108	5,01 ± 0,02	5,25 ± 0,04	6,23 ± 0,06
	Роллерный	120	6,12 ± 0,11*	6,35 ± 0,08*	7,45 ± 0,14*
№2 (30% ГЛА, 50% MEM, 20% 199)	Стационарный	110	5,35 ± 0,14	5,60 ± 0,11	6,78 ± 0,12
	Роллерный	132	6,58 ± 0,03*	6,80 ± 0,05*	8,16 ± 0,05*
№3 (30% ГЛА, 70% 199)	Стационарный	108	5,15 ± 0,18	5,40 ± 0,13	6,50 ± 0,15
	Роллерный	120	6,20 ± 0,15*	6,55 ± 0,10*	7,68 ± 0,12*
№4 (20% ГЛА, 80% MEM)	Стационарный	96	4,85 ± 0,20	5,10 ± 0,15	6,10 ± 0,18
	Роллерный	110	5,85 ± 0,18*	6,15 ± 0,12*	7,10 ± 0,16*
№5 (10% ГЛА, 80% MEM, 10% пептон)	Стационарный	120	5,10 ± 0,12	5,30 ± 0,10	6,45 ± 0,14
	Роллерный	130	6,35 ± 0,12*	6,60 ± 0,09*	7,55 ± 0,10*

Примечание: * – Различия статистически значимы по сравнению со стационарным контролем.

Результаты эксперимента подтверждают, что на накопление исследуемых штаммов ПГ-3 одновременно влияют как компонентный состав питательной среды, так и выбранный способ культивирования. Преимущество рецептуры № 2, обеспечившей максимальные титры для всех исследуемых штаммов, обусловлено сбалансированным составом экзогенных аминокислот, витаминов и нуклеозидов, содержащихся в комбинации сред MEM и 199. Включение в состав 30 % гидролизата лактальбумина, обеспечивает культуру клеток дополнительным источником низкомолекулярных пептидов, вероятно, служащих доступным субстратом для биосинтеза структурных белков вириона. В свою очередь, введение среды 199 (до 20 %) обогащает питательную среду пуриновыми и пиримидиновыми основаниями. Это позволяет предположить, что наличие данных компонентов играет ключевую роль в обеспечении интенсивной репликации вирусной РНК на этапах активного накопления возбудителя. По всей видимости, именно такое сочетание синтетических основ и гидролизатов поддерживает высокую метаболическую активность клеток, создавая необходимые условия для сохранения нативной конформации протективных антигенов.

Наряду с оптимизацией состава сред, решающее значение для продуктивности процесса имеют физико-химические условия выращивания. Статистически значимое повышение инфекционной активности штаммов при использовании роллерной технологии ($p \leq 0,05$), по-видимому, обусловлено постоянным перемешиванием среды связано с постоянным перемешиванием среды и улучшением аэрации культуры клеток. Предположительно, непрерывное вращение сосудов обеспечивает равномерное распределение компонентов питательной среды и препятствует избыточному скоплению продуктов метаболизма в зоне роста клеток, что имеет первостепенное значение для сохранения целостности монослоя. Вероятно, в стационарных условиях накопление лактата приводит к преждевременному закислению среды, вызывающему гибель клеток. Роллерный способ позволяет избежать этого негативного влияния, способствуя заражению максимального количества жизнеспособных клеток. Количественная оценка эффективности роллерного способа на оптимальной питательной среде представлена на рисунке 1.

Рисунок 1 – Сравнительная эффективность роллерного способа культивирования штаммов вируса ПГ-3 относительно стационарного контроля ($M \pm m$; $p \leq 0,05$)



Расчет относительных показателей эффективности (рисунок 1) подтверждает, что использование роллерного способа обеспечивает статистически значимое ($p \leq 0,05$) увеличение инфекционной активности штаммов ПГ-3 в диапазоне 20,3-22,9% относительно стационарного контроля. Наиболее выраженное превышение титра отмечено у вакцинного штамма «ПТК-45/86» (22,9%), что свидетельствует о высокой технологической результативности выбранных параметров культивирования.

Важной особенностью процесса культивирования в роллерной системе является удлинение периода достижения максимальной концентрации вируса (до 132 часов), что, скорее всего, связано с увеличением фазы активного накопления вирусных частиц. В отличие от стационарных условий, где деструкция монослоя под действием вируса наступает быстрее вследствие накопления продуктов метаболизма, роллерный способ культивирования позволяет клеткам дольше сохранять жизнеспособность. Это позволяет предположить, что поддержание метаболической активности монослоя в течение экспоненциальной фазы репродукции штаммов в конечном итоге обеспечивает существенное увеличение суммарного выхода вирусного антигена.

Наряду с этим установлено, что рецептура № 2 выполняет роль не только поддерживающего субстрата, но и стабилизирующей среды, предотвращающей потерю активности вновь образованных вирионов в процессе длительного инкубирования. В то же время рецептуры № 4 и № 5 характеризовались более низкой эффективностью, что, вероятно, связано с дефицитом отдельных ростовых факторов, необходимых для полноценного созревания вирионов ПГ-3. В частности, снижение концентрации гидролизата лактальбумина в рецептуре № 4 (до 20 %) могло привести к ограничению биосинтетических процессов. Таким образом, совокупность полученных данных позволяет рассматривать сочетание высокопитательной среды № 2 и роллерного метода как оптимальное технологическое решение, гарантирующее получение высокоактивного вирусного сырья с воспроизводимыми показателями инфекционной активности.

Заключение. Проведенные исследования позволили определить оптимальные биотехнологические параметры культивирования штаммов вируса ПГ-3 крупного рогатого скота для получения высокоактивного вирусного сырья. На основании сравнительного анализа установлено, что наиболее высокой чувствительностью к изученным штаммам обладают гомологичные клеточные системы ПТ-80, ЛЭК и МДБК. В качестве оптимальной клеточной модели для промышленного накопления вируса выбрана перевиваемая линия ПТ-80, на которой отмечено наиболее выраженное повышение инфекционной активности вакцинного штамма «ПТК-45/86» к пятому пассажу.

Экспериментально доказано, что применение роллерного способа культивирования в сочетании с высокопитательной поддерживающей средой (на основе МЕМ, 199 и 30% ГЛА) является наиболее эффективным технологическим решением. Использование данной технологии обеспечивает относительное увеличение инфекционной активности штаммов ПГ-3 в диапазоне 20,3-22,9% относительно стационарного контроля, что позволяет достичь высоких показателей накопления вирионов в интервале 6,58-8,16 lg ТЦД₅₀/мл. Установлено, что максимальная репродукция штаммов обеспечивается при соблюдении следующих параметров: инфицирующая доза – 3,0-4,0 lg ТЦД₅₀/мл, посевной концентрации клеточного субстрата 110-120 тыс. кл/мл и продолжительности инкубирования в течение 120-144 часов (5-6 суток). посевная концентрация клеточного субстрата – 110-120 тыс. кл/мл, продолжительность инкубирования – 120-144 часа (5-6 суток). Полученные результаты имеют прикладное значение и служат научно-практическим обоснованием для совершенствования технологии производства высокоэффективных вакцинных препаратов, предназначенных для специфической профилактики парагриппа-3 крупного рогатого скота.

Список источников

1. Сидорчук А. А., Масимов Н. А., Крупальник В. Л. [и др.]. Инфекционные болезни животных: учебник. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ИНФРА-М, 2024. – 954 с.
2. Ермилова Т. С., Самбурова М. А., Кашарная О. В. [и др.]. Респираторные заболевания молодняка крупного рогатого скота // Ветеринария сегодня. – 2022. – Т. 11. – № 3. – С. 203-209. – DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-203-209.
3. O'Donoghue S., Waters S. M., Morris D. W., Earley B. A Comprehensive Review: Bovine Respiratory Disease, Current Insights into Epidemiology, Diagnostic Challenges, and Vaccination // Veterinary Sciences. – 2025. – Vol. 12. – № 8. – Art. 778. – DOI: 10.3390/vetsci12080778.
4. Adekunle A., Kaniyamattam K. Bovine Respiratory Disease: Epidemiological Drivers, Transmission Dynamics, and Economic Implications in Beef Production Systems // Agriculture. – 2026. – Vol. 16. – № 3. – Art. 311. – DOI: 10.3390/agriculture16030311.
5. Makoschey B., Berge A. C. Review on bovine respiratory syncytial virus and bovine parainfluenza – Usual suspects in bovine respiratory disease – A narrative review // BMC Veterinary Research. – 2021. – Vol. 17. – № 1. – Art. 261. – DOI: 10.1186/s12917-021-02935-5.
6. Wen S., Zhang J., Lu N. [et al.]. Bovine Parainfluenza Virus Type 3 Infection Reprograms the Bovine Serum Lipidome Associated with Phosphatidylinositol Depletion and Sphingolipid Axis Activation // Microorganisms. – 2026. – Vol. 14. – № 1. – Art. 252. – DOI: 10.3390/microorganisms14010252.
7. Zhang M., Bravo Araya M. Bovine Parainfluenza Virus 3 // Veterinary Virology of Domestic and Pet Animals / eds. L. Wang. – Cham : Springer. – 2026. – DOI: 10.1007/978-3-031-54690-7_40-1.
8. Ren Y., Chen X., Tang C., Yue H. First isolation and characterization of a bovine parainfluenza virus type 3 genotype C strain from an aborted Holstein fetus // Frontiers in Veterinary Science. – 2025. – Vol. 12. – Art. 1598013. – DOI: 10.3389/fvets.2025.1598013.
9. Fenner's Veterinary Virology / eds. N. J. MacLachlan, E. J. Dubovi. – 5th ed. – London : Academic Press. – 2016. – 601 p. – ISBN: 978-0-12-800946-8. – DOI: 10.1016/C2013-0-06921-6.

10. Мухаммадиев Р. С., Хусаинова Г. И., Мухаммадиев Р. С. [и др.]. Оптимизация условий культивирования штаммов вируса респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота // *Ветеринарный врач*. – 2025. – № 4. – С. 74–80. – DOI: 10.33632/1998-698X_2025_4_74.
11. Каримуллина И. Г., Яруллин А. И., Мухаммадиев Р. С. [и др.]. Подбор условий выращивания бычьего герпесвируса и бычьего вируса вирусной диареи на культурах клеток // *Ветеринарный врач*. – 2025. – № 2. – С. 68-76.
12. Методические указания по лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота : (рекомендованы Минсельхозом СССР 25.07.1978). – Москва : Колос, 1979. – 32 с.
13. Werid G. M., Van T. D., Miller D. [et al.]. Bovine Parainfluenza-3 Virus Detection Methods and Prevalence in Cattle: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Animals*. – 2024. – Vol. 14. – № 3. – Art. 494. – DOI: 10.3390/ani14030494.
14. Гериш А., Гумеров В. Г., Галиуллин А. К. [и др.]. Изучение биологических и физико-химических свойств изолята вируса парагриппа-3 крупного рогатого скота // *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*. – 2020. – Т. 241. – № 1. – С. 66-70. – DOI: 10.31588/2413-4201-1883-241-1-66-70.
15. Welch B. D., Yuan P., Bose S. [et al.]. Structure of the Parainfluenza Virus 5 (PIV5) Hemagglutinin-Neuraminidase (HN) Ectodomain // *PLoS Pathogens*. – 2013. – Vol. 9. – № 8. – Art. e1003534. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1003534.

References

1. Sidorchuk A. A., Masimov N. A., Krupalnik V. L., et al. Infectious diseases of animals: textbook. – 2nd ed., rev. and add. – Moscow : INFRA-M, 2024. – 954 p.
2. Ermilova T. S., Samburova M. A., Kasharnaya O. V. [et al.]. Respiratory diseases of young cattle // *Veterinary Science Today*. – 2022. – Vol. 11. – № 3. – P. 203-209. – DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-203-209.
3. O'Donoghue S., Waters S. M., Morris D. W., Earley B. A Comprehensive Review: Bovine Respiratory Disease, Current Insights into Epidemiology, Diagnostic Challenges, and Vaccination // *Veterinary Sciences*. – 2025. – Vol. 12. – № 8. – Art. 778. – DOI: 10.3390/vetsci12080778.
4. Adekunle A., Kaniyamattam K. Bovine Respiratory Disease: Epidemiological Drivers, Transmission Dynamics, and Economic Implications in Beef Production Systems // *Agriculture*. – 2026. – Vol. 16. – № 3. – Art. 311. – DOI: 10.3390/agriculture16030311.
5. Makoschey B., Berge A. C. Review on bovine respiratory syncytial virus and bovine parainfluenza – Usual suspects in bovine respiratory disease – A narrative review // *BMC Veterinary Research*. – 2021. – Vol. 17. – № 1. – Art. 261. – DOI: 10.1186/s12917-021-02935-5.
6. Wen S., Zhang J., Lu N. [et al.]. Bovine Parainfluenza Virus Type 3 Infection Reprograms the Bovine Serum Lipidome Associated with Phosphatidylinositol Depletion and Sphingolipid Axis Activation // *Microorganisms*. – 2026. – Vol. 14. – № 1. – Art. 252. – DOI: 10.3390/microorganisms14010252.
7. Zhang M., Bravo Araya M. Bovine Parainfluenza Virus 3 // *Veterinary Virology of Domestic and Pet Animals* / eds. L. Wang. – Cham: Springer. – 2026. – DOI: 10.1007/978-3-031-54690-7_40-1.
8. Ren Y., Chen X., Tang C., Yue H. First isolation and characterization of a bovine parainfluenza virus type 3 genotype C strain from an aborted Holstein fetus // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2025. – Vol. 12. – Art. 1598013. – DOI: 10.3389/fvets.2025.1598013.
9. Fenner's Veterinary Virology / eds. N. J. MacLachlan, E. J. Dubovi. – 5th ed. – London : Academic Press. – 2016. – 601 p. – ISBN: 978-0-12-800946-8. – DOI: 10.1016/C2013-0-06921-6.
10. Mukhammadiev R. S., Khusainova G. I., Mukhammadiev R. S. [et al.]. Optimization of cultivation conditions for bovine respiratory syncytial virus strains // *The Veterinarian*. – 2025. – № 4. – P. 74-80. – DOI: 10.33632/1998-698X_2025_4_74.
11. Karimullina I. G., Yarullin A. I., Mukhammadiev R. S. [et al.]. Selection of growing conditions for bovine herpesvirus and bovine viral diarrhoea virus on cell cultures // *The Veterinarian*. – 2025. – № 2. – С. 68-76.
12. Guidelines for laboratory diagnostics of viral respiratory and intestinal infections of cattle : (recommended by the Ministry of Agriculture of the USSR on July 25, 1978). – Moscow : Kolos, 1979. – 32 p.
13. Werid G. M., Van T. D., Miller D., Hemmatzadeh F., Fulton R. W., Kirkwood R., Petrovski K. Bovine Parainfluenza-3 Virus Detection Methods and Prevalence in Cattle: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Animals*. – 2024. – Vol. 14. – № 3. – Art. 494. – DOI: 10.3390/ani14030494.

14. Gerish A., Gumerov V. G., Galiullin A. K. [et al.]. Studying the biological and physicochemical properties of bovine parainfluenza-3 virus isolate // Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine. – 2020. – Vol. 241. – № 1. – P. 66-70. – DOI: 10.31588/2413-4201-1883-241-1-66-70.
15. Welch B. D., Yuan P., Bose S. [et al.]. Structure of the Parainfluenza Virus 5 (PIV5) Hemagglutinin-Neuraminidase (HN) Ectodomain // PLoS Pathogens. – 2013. – Vol. 9. – № 8. – Art. e1003534. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1003534.

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 11.03.2026;

© Каримуллина И. Г., Мухаммадиев Рин. С., Яруллин А. И, Мухаммадиев Риш. С. Хусаинова Г. И., Фазулзянов И. Р., Шеметюк С. А. 2026

Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 136 – 141
The Veterinarian. 2026; (2): 136 – 141

Научная статья
УДК 577.21:577.213
DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_136

КОНТРОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОЙ ПЛАЗМИДЫ С МОНО- И КОЭКСПРЕССИЕЙ ЦЕЛЕВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ PLACDUALIL10/IL22 МЕТОДОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПО СЭНГЕРУ

Виктор Сергеевич Самойленко, кандидат ветеринарных наук, viktor_samoylenko_26@mail.ru
Анастасия Александровна Лапина, anastasija.la2018@yandex.ru
Софья Дмитриевна Подставкина, sofisopha2006@gmail.com

Медико-биологический факультет, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет», Ставрополь, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Виктор Сергеевич Самойленко.

Аннотация. Разработка рекомбинантных пробиотических штаммов, способных к коэкспрессии биологически активных молекул, представляет перспективное направление в сельском хозяйстве. Однако существующие методы верификации генетических конструкций, такие как ПЦР и рестрикционный анализ, не обеспечивают достаточной точности для выявления точечных мутаций, делеций и нарушений рамки считывания, что ставит под угрозу безопасность и эффективность конечного продукта. В данной статье представлен усовершенствованный протокол полной верификации рекомбинантной плазмиды pLacDualIL10/IL22, предназначенной для коэкспрессии интерлейкинов IL-10 и IL-22 в штамме *Lactobacillus* spp., с использованием секвенирования по Сэнгеру. Метод включает выделение плазмидной ДНК, секвенирование с панелью универсальных и специфических праймеров, обеспечивающих полное двунаправленное покрытие ($\geq 5\times$) всех критических областей плазмиды, и биоинформатический анализ с критериями качества Phred ≥ 30 . Показано, что предложенный подход позволяет надежно идентифицировать ошибки клонирования, обеспечивая 100% идентичность верифицированных последовательностей референсным генам. В результате отобраны клоны с генетически подтвержденной целостностью конструкции, пригодные для создания безопасных и эффективных пробиотиков. Разработанный протокол может быть применен для контроля качества сложных рекомбинантных плазмид в биотехнологических исследованиях.

Ключевые слова: плазида, верификация, нуклеотидные последовательности, клоны, пробиотики, секвенирование

Для цитирования: Самойленко В. С., Лапина А. А., Подставкина С.Д. Контроль генетической целостности рекомбинантной плазмиды с моно- и коэкспрессией целевых генетических конструкций placdualil10/il22 методом секвенирования по сэнгеру// Ветеринарный врач. 2026. № 2. С. 136 – 141. DOI: 10.33632/1998-698X_2026_2_136

GENETIC INTEGRITY CONTROL OF THE RECOMBINANT PLASMID PLACDUALIL10/IL22 WITH MONO- AND CO-EXPRESSION OF TARGET GENETIC CONSTRUCTS BY SANGER SEQUENCING

Viktor S. Samoylenko, candidate of veterinary sciences, viktor_samoylenko_26@mail.ru
Anastasia A. Lapina, anastasija.la2018@yandex.ru
Sophia D. Podstavkina, sofisopha2006@gmail.com

Faculty of Medical and Biological Sciences, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "North Caucasus Federal University", Stavropol, Russian Federation

Corresponding author: Viktor Sergeevich Samoylenko.

Abstract. The development of recombinant probiotic strains capable of co-expressing biologically active molecules represents a promising direction in agriculture. However, existing methods for verifying genetic constructs, such as PCR and restriction analysis, do not provide sufficient accuracy for detecting point mutations, deletions, and frameshifts, which compromises the safety and efficacy of the final product. This article presents an improved protocol for the complete verification of the recombinant plasmid pLacDualIL10/IL22, designed for co-expression of interleukins IL-10 and IL-22 in a *Lactobacillus* spp. strain, using Sanger sequencing. The method includes plasmid DNA isolation, sequencing with a panel of universal and specific primers ensuring complete bidirectional coverage ($\geq 5\times$) of all critical plasmid regions, and bioinformatics analysis with a Phred quality criteria of ≥ 30 . The proposed approach was shown to reliably identify cloning errors, ensuring 100% identity of verified sequences to reference genes. As a result, clones with genetically confirmed construct integrity were selected, suitable for the creation of safe and effective probiotics. The developed protocol can be applied to the quality control of complex recombinant plasmids in biotechnological research.

Keywords: plasmid, verification, nucleotide sequences, clones, probiotics, sequencing

Введение. Развитие молекулярной биологии и генетической инженерии открыло новые горизонты в создании рекомбинантных пробиотических штаммов с заданными свойствами. Такие штаммы являются перспективными инструментами в различных областях, включая животноводство, где они применяются в качестве альтернативы антибиотикам. Ключевым направлением является конструирование штаммов, способных к моно- или коэкспрессии целевых биологически активных молекул, таких как цитокины, которые играют критическую роль в регуляции иммунного ответа и поддержании барьерной функции слизистых оболочек.

Основой для создания таких пробиотиков служат рекомбинантные плазмидные векторы, несущие синтетические генетические конструкции. Однако процесс клонирования и трансформации несет в себе риски, связанные с возникновением ошибок, таких как точечные мутации, делеции, инсерции или нарушения рамки считывания, которые могут возникать на этапах ПЦР-амплификации, лигирования и репликации плазмиды в клетке-хозяине. Наличие даже незначительных отклонений в нуклеотидной последовательности может привести к потере функциональности целевого белка, неправильной экспрессии или непредсказуемым эффектам на организм-хозяин. Поэтому точная верификация генетической конструкции является не просто формальным этапом, а критически важным условием, гарантирующим безопасность, эффективность и генетическую стабильность конечного пробиотического продукта.

Традиционно для первичной проверки наличия целевой вставки в плазмиду используются такие методы, как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и рестрикционный анализ. Хотя эти методы являются быстрыми и экономичными, они обладают существенными ограничениями. ПЦР подтверждает лишь факт присутствия фрагмента ожидаемого размера, но не предоставляет информации о его точной нуклеотидной последовательности, что делает метод нечувствительным к точечным мутациям. Рестрикционный анализ позволяет косвенно судить о целостности сайтов рестрикции, но также не детектирует однонуклеотидные замены или небольшие индель-мутации в некодирующих или кодирующих регионах.

Более совершенным методом является секвенирование по Сэнгеру, которое считается «золотым стандартом» для подтверждения последовательности коротких фрагментов ДНК. Однако в известных подходах, его применение часто ограничивается анализом только целевого гена без полного охвата всей плазмидной конструкции. Данный подход не позволяет полностью исключить ошибки в критически важных областях, таких как промоторы, терминаторы, сайты клонирования и участки стыковки генов, что особенно актуально для векторов, предназначенных для коэкспрессии нескольких генов. Кроме того, существующие протоколы часто не предусматривают строгих количественных критериев для оценки качества секвенирующих данных и полноты покрытия, что может снижать достоверность верификации.

Материалы и методы. Исследования по контролю генетической целостности рекомбинантной плазмиды с моно- и коэкспрессией целевых генетических конструкций PlacDualIL10/IL22 осуществляли на базе геномного центра Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет», в период с 2024 по 2026 гг. При проведении верификации использовали рекомбинантные штаммы пробиотических бактерий, ранее трансформированные плазмидной ДНК pLacDualIL10/IL22, предназначенной для коэкспрессии генов интерлейкина-10 (IL-10) и интерлейкина-22 (IL-22). Отобранные ПЦР-положительные клоны культивировали в 5 мл жидкой селективной среды MRS, дополненной анти-

биотиками: 5 мкг/мл эритромицина и 10 мкг/мл хлорамфеникола. Инкубацию проводили при 37°C в анаэробных условиях в течение 16–18 часов до достижения стационарной фазы роста (оптическая плотность OD₆₀₀ 2.5–3.0).

Выделение плазмидной ДНК проводили с использованием коммерческого набора GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Scientific, США) по модифицированному для грамположительных бактерий протоколу. Клеточный осадок ресуспендировали в 250 мкл буфера P1 (50 mM Tris-HCl, pH 8.0; 10 mM EDTA; 100 мкг/мл RNase A) с добавлением 10 мг/мл лизоцима и инкубировали при 37°C в течение 30 минут для лизиса клеточной стенки. Последовательно добавляли 250 мкл буфера P2 (200 mM NaOH, 1% SDS) для лизиса клеток и 350 мкл буфера N3 (3.5 M ацетат калия, pH 5.5) для осаждения белков и геномной ДНК. После центрифугирования при 12000 g в течение 10 минут супернатант переносили на сорбционную колонку, промывали буфером PW (5 mM Tris-HCl, pH 7.5; 80% этанол) и элюировали ДНК 50 мкл буфера EB (10 mM Tris-HCl, pH 8.5). Концентрацию и чистоту очищенной плазмидной ДНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop One (Thermo Scientific, США). Приемлемыми считали показатели: концентрация > 20 нг/мкл, соотношение A₂₆₀/A₂₈₀ в диапазоне 1.8–2.0 и A₂₆₀/A₂₃₀ > 2.0.

Секвенирование по Сэнгеру проводили с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США).

Реакционная смесь объемом 10 мкл содержала: 100 нг плазмидной ДНК, 1.0 мкл готовой смеси BigDye Terminator, 1.6 мкМ каждого праймера, 3.0 мкл 5× секвенирующего буфера (400 mM Tris-HCl, pH 9.0; 10 mM MgCl₂).

Для проведения реакции использовали набор секвенирующих праймеров: универсальные праймеры: M13-F (5'-TGTAACGACGCGCCAGT-3'), M13-R (5'-CAGGAACAGCTATGACC-3'), специфические праймеры для гена IL-10: IL10-seqF1 (5'-GCTACCTGGGAGACCTCAG-3'), IL10-seqR1 (5'-CTGGGTCTTGGTGTTCAGGT-3'), специфические праймеры для гена IL-22: IL22-seqF1 (5'-CAGGTGCTGGAGGACTTC-3'), IL22-seqR1 (5'-GTCCTTGAGCTTGGTGTTC-3') и Праймеры для фланкирующих сайтов клонирования: pLac-seqF (5'-GCTAGCATGCCTGCAGGTCGAC-3'), pLac-seqR (5'-CGACGGTATCGATAAGCTTGAT-3'). Праймеры были расположены с интервалом 500–700 п.н. для обеспечения полного покрытия последовательности с перекрытием.

Термоциклирование проводили в амплификаторе Applied Biosystems 2720. После завершения реакции секвенирования продукты очищали осаждением этанолом. К 10 мкл реакционной смеси добавляли: 1 мкл 125 mM EDTA, pH 8.0, 1 мкл 3 M ацетата натрия, pH 5.2 и 25 мкл 96% этанола. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут, затем центрифугировали при 16000 g и 4°C в течение 30 минут. Осадок дважды промывали 70% этанолом, высушивали и ресуспендировали в 10 мкл Hi-Di формамида (Applied Biosystems, США).

Денатурацию проводили при 95°C в течение 2 минут с последующим немедленным охлаждением на льду. Капиллярное электрофоретическое разделение фрагментов выполняли на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer с использованием капилляров длиной 50 см и полимера POP-7. Стандартные параметры запуска: инъекция при 1.2 кВ в течение 10 секунд, электрофорез при 8.5 кВ в течение 90 минут.

Первичный анализ хроматограмм, выравнивание и сборку контигов проводили в программном пакете Geneious Prime 2023.1.2 (Biomatters Ltd., Новая Зеландия). Качество последовательностей оценивали по показателю Phred ≥ 30 (что соответствует точности считывания основания $\geq 99.9\%$) и отношению сигнал/шум $\geq 3:1$.

Проводили множественное выравнивание полученных последовательностей с референсными последовательностями с использованием алгоритма MUSCLE. Верифицированным считали клон, для которого было получено полное двунаправленное покрытие (forward и reverse) $\geq 5\times$ всей вставки и прилегающих векторных последовательностей без выявления мутаций или нарушений рамки считывания.

Результаты исследований и их обсуждение. На первом этапе работы был проведен сравнительный анализ эффективности различных методов верификации нуклеотидной последовательности рекомбинантной плазмиды pLacDualIL10/IL22. Стандартный ПЦР-анализ со специфичными праймерами подтвердил наличие ампликонов ожидаемого размера для генов IL-10 и IL-22 в отобранных клонах. Однако для гена IL-10 наблюдалась частичная амплификация нецелевых продуктов, что указывало на перекрестную реакцию праймеров со схожими участками векторной основы, а амплификация гена IL-22 давала нестабильные результаты, свидетельствующие о возможной неполной инкорпорации гена или ошибках ПЦР. Таким образом, ПЦР позволил лишь констатировать факт присутствия вставок, но не дал никакой информации об их точной последовательности, наличии точечных

мутаций или сохранности рамки считывания. Метод ПЦР в реальном времени (ПЦР-РТ), направленный на оценку активности генов, показал высокую чувствительность, но его интерпретация была осложнена ложноположительными сигналами из-за неспецифического связывания праймеров и невозможности надежно отличить сигнал от низкоуровневой экспрессии дефектных конструкций. Напротив, прямое секвенирование по Сэнгеру с использованием разработанной панели праймеров позволило получить исчерпывающие данные о нуклеотидной последовательности всей плазмидной конструкции.

Применение усовершенствованного протокола секвенирования по Сэнгеру обеспечило полное и надежное покрытие всей последовательности рекомбинантной плазмиды pLacDualIL10/IL22. Анализ хроматограмм в программе Geneious Prime продемонстрировал высокое качество данных: средний показатель Phred ≥ 30 (точность $\geq 99.9\%$) и отношение сигнал/шум $\geq 3:1$ во всех проанализированных участках, что исключило ошибки интерпретации, связанные с шумом. Стратегия использования комбинации универсальных (M13) и кастомных праймеров, расположенных с интервалом 500-700 п.н. с перекрытием, обеспечила полное двунаправленное покрытие ($\geq 5\times$) как вставленных генов IL-10 и IL-22, так и всех критических областей плазмиды, включая сайты клонирования, промоторы, терминаторы, ориджин репликации и ген антибиотикорезистентности. Множественное выравнивание полученных последовательностей с референсными последовательностями (IL-10: GenBank MK128543.1; IL-22: GenBank MK128544.1; вектор pLacDual) показало 100% идентичность. Ключевой результат анализа – полное отсутствие ошибок в верифицированных клонах: не было выявлено точечных мутаций, делеций, инсерций или нарушений рамки считывания. Участки стыковки генов с вектором, последовательности сигнальных пептидов, зоны рестрикционных сайтов (BsaI, EcoRI) и участки гомологии между генами полностью соответствовали ожидаемым. В результате были отобраны клоны с генетически подтвержденной целостностью конструкции, которые были сохранены для дальнейшего использования. Таким образом, разработанный способ доказал свою эффективность для комплексной и высокоточной верификации сложных рекомбинантных плазмид, предназначенных для коэкспрессии нескольких целевых генов.

Проведенное исследование демонстрирует критическую важность применения полного секвенирования по Сэнгеру для верификации сложных рекомбинантных плазмид, предназначенных для коэкспрессии нескольких генов. Полученные результаты однозначно показывают, что традиционные методы контроля, такие как ПЦР и рестрикционный анализ, хотя и полезны для первичного скрининга, являются недостаточными для гарантии генетической целостности конструкции. Наш опыт выявил, что даже в ПЦР-положительных клонах могут присутствовать неспецифические ампликоны и признаки нестабильной амплификации, что косвенно указывает на потенциальные проблемы с последовательностью, которые невозможно детектировать без прямого секвенирования.

Ключевым достижением данной работы является разработка и валидация стратегии полного покрытия плазмидной конструкции. Использование кастомных праймеров, расположенных с перекрытием через каждые 500-700 п.н., позволило получить надежное двунаправленное покрытие не только кодирующих последовательностей генов IL-10 и IL-22, но и всех регуляторных элементов – промоторов, терминаторов, сайтов клонирования и участков стыковки. Это особенно важно для таких сложных конструкций, как pLacDualIL10/IL22, где корректная работа каждого элемента напрямую влияет на сбалансированную коэкспрессию целевых белков. Установление строгих критериев качества (Phred ≥ 30 , покрытие $\geq 5\times$) позволило стандартизировать процесс верификации и минимизировать субъективность при интерпретации данных.

Важным аспектом является также демонстрация 100% идентичности верифицированных последовательностей референсным генам. Отсутствие каких-либо ошибок в отобранных клонах подтверждает не только точность метода секвенирования, но и эффективность использованных протоколов клонирования и трансформации. Однако это не отменяет необходимости тотального секвенирования, так как в других исследованиях, где секвенирование применялось выборочно, часто оставались невыявленными ошибки в некодирующих регионах, что впоследствии приводило к нестабильной экспрессии или полной потере функции конструкции.

Предлагаемый протокол, несмотря на трудоемкость, является необходимым этапом для обеспечения безопасности и эффективности создаваемых рекомбинантных пробиотиков, особенно предназначенных для применения в сельском хозяйстве. В дальнейшем метод может быть адаптирован для верификации других плазмидных конструкций и оптимизирован за счет частичной автоматизации процессов подготовки проб и анализа данных. Таким образом, представленный подход вносит значительный вклад в обеспечение контроля качества в биотехнологических разработках, связанных с созданием генетически модифицированных микроорганизмов.

Заключение. Проведенное исследование подтвердило необходимость и высокую эффективность применения полного секвенирования по Сэнгеру для исчерпывающей верификации рекомбинантных плазмидных конструкций. Разработанный и валидированный протокол, включающий стратегию полного покрытия плазмиды с помощью кастомных праймеров и строгие критерии качества данных ($\text{Phred} \geq 30$, двунаправленное покрытие $\geq 5\times$), позволил гарантировать генетическую целостность и правильность сборки сложной конструкции pLacDualIL10/IL22.

Было продемонстрировано, что традиционные методы (ПЦР, рестрикционный анализ) не являются достаточными для выявления точечных мутаций и ошибок в критических регуляторных элементах, что ставит под сомнение надежность скрининга, основанного исключительно на этих подходах. Использование усовершенствованного протокола секвенирования обеспечило надежное подтверждение 100% идентичности всех функциональных элементов плазмиды – генов IL-10 и IL-22, промоторов, терминаторов и сайтов клонирования – референсным последовательностям. Таким образом, внедрение комплексной верификации на основе секвенирования по Сэнгеру является обязательным этапом в конвейере создания рекомбинантных штаммов-продуцентов. Этот подход обеспечивает необходимый уровень контроля для разработки безопасных и эффективных пробиотических препаратов на основе генетически модифицированных микроорганизмов, предназначенных для применения в сельском хозяйстве в качестве альтернативы антибиотикам. Предложенная методика представляет собой надежный инструмент для обеспечения качества и воспроизводимости в современных биотехнологических исследованиях.

Список источников

1. Al-Shuhaib M.B.S., Hashim H.O. Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2023. Vol. 21. Art. 115.
2. Crossley B.M., Bai J., Glaser A., Maes R., Porter E., Killian M.L., Clement T., Toohey-Kurth K. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2020. Vol. 32. P. 767–775.
3. Eren K., Taktakoğlu N., Pirim I. DNA sequencing methods: from past to present // *Eurasian Journal of Medicine*. 2022. Vol. 54. P. 47–56.
4. Heather J.M., Chain B. The sequence of sequencers: the history of sequencing DNA // *Genomics*. 2016. Vol. 107. P. 1–8.
5. Li J., Yang L., Wang K. et al. Characterisation of human astrovirus in a diarrhoea outbreak using nanopore and Sanger sequencing protocols // *Virology Journal*. 2023. Vol. 20. Art. 263.
6. Rosano G.L., Ceccarelli E.A. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges // *Frontiers in Microbiology*. 2014. Vol. 5. Art. 172.
7. Slatko B.E., Gardner A.F., Ausubel F.M. Overview of next-generation sequencing technologies // *Current Protocols in Molecular Biology*. 2018. Vol. 122. Art. e59.
8. Wei H.X., Wang B., Li B. IL-10 and IL-22 in mucosal immunity: driving protection and pathology // *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. Art. 1315.
9. Wu J., Xin Y., Kong J., Guo T. Genetic tools for the development of recombinant lactic acid bacteria // *Microbial Cell Factories*. 2021. Vol. 20. Art. 118.
10. Zhong Y., Xu F., Wu J., Schubert J., Li M.M. Application of next generation sequencing in laboratory medicine // *Annals of Laboratory Medicine*. 2021. Vol. 41. P. 25–43.

References

1. Al-Shuhaib M.B.S., Hashim H.O. Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2023. Vol. 21. Art. 115.
2. Crossley B.M., Bai J., Glaser A., Maes R., Porter E., Killian M.L., Clement T., Toohey-Kurth K. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2020. Vol. 32. P. 767–775.
3. Eren K., Taktakoğlu N., Pirim I. DNA sequencing methods: from past to present // *Eurasian Journal of Medicine*. 2022. Vol. 54. P. 47–56.
4. Heather J.M., Chain B. The sequence of sequencers: the history of sequencing DNA // *Genomics*. 2016. Vol. 107. P. 1–8.
5. Li J., Yang L., Wang K. et al. Characterisation of human astrovirus in a diarrhoea outbreak using nanopore and Sanger sequencing protocols // *Virology Journal*. 2023. Vol. 20. Art. 263.

6. Rosano G.L., Ceccarelli E.A. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges // *Frontiers in Microbiology*. 2014. Vol. 5. Art. 172.
7. Slatko B.E., Gardner A.F., Ausubel F.M. Overview of next-generation sequencing technologies // *Current Protocols in Molecular Biology*. 2018. Vol. 122. Art. e59.
8. Wei H.X., Wang B., Li B. IL-10 and IL-22 in mucosal immunity: driving protection and pathology // *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. Art. 1315.
9. Wu J., Xin Y., Kong J., Guo T. Genetic tools for the development of recombinant lactic acid bacteria // *Microbial Cell Factories*. 2021. Vol. 20. Art. 118.
10. Zhong Y., Xu F., Wu J., Schubert J., Li M.M. Application of next generation sequencing in laboratory medicine // *Annals of Laboratory Medicine*. 2021. Vol. 41. P. 25–43.

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 13.02.2026;

© Самойленко В. С., Лапина А. А., Подставка С.Д. 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.
Коломиет С.Н. - доктор биологических наук, доцент, г. Москва.
Кочин 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.
Семёнов 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 – 15.04.2026 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

