

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ВРАЧ

THE VETERINARIAN

№5
2025

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

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ
RESEARCH & INDUSTRIAL JOURNAL



ЖУРНАЛ ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛОВ ОТ ПРОФЕССИОНАЛОВ



СОДЕРЖАНИЕ

Сметов Петр Кузьмич – основатель отделения токсикологии ВНИВИ	5
ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ	
Герунов Т. В., Герунов В. И., Чигринский Е. А., Гонохова М. Н., Герунова Л. К., Федоров Ю. Н., Лапухова В. А. Механизмы нейротоксичности микотоксинов	7
Кадиков И. Р., Куршакова Е. И., Сагдеев Д. Р., Рахматуллин Э. К., Майорова Е. Н., Вафин И. Ф., Корчемкин А. А. Эффективность комплексообразующих соединений при воздействии кадмия и свинца на организм белых крыс	17
Касanova Н. Р., Головкова Е. Е., Валиуллина Д. А., Галлямова М. Ю. Защита организма перепелов от свободнорадикального окисления посредством природного антиоксиданта	24
Рахматуллин Э. К., Кадиков И. Р., Майорова Е.Н., Куршакова Е.И., Сагдеев Д. Р. Изучение потенциальной токсичности комплексного препарата для наружного применения	30
Тарасова Е. Ю., Матросова Л. Е., Ермолаева О. К., Танасева С. А., Кашеваров Г. С., Идрисова Э. И. Ферментный статус белых крыс при воздействии фузариотоксинов и афлатоксина B ₁	37
САНИТАРИЯ, ГИГИЕНА, ЭКОЛОГИЯ, ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ	
Егоров В. И., Буркин К. Е., Алеев Д. В., Халикова К. Ф., Ямалова Г.Р ., Маланьев А. В., Галяутдинова Г. Г. Изучение сорбционных свойств различных сорбентов в отношении глифосата <i>in vitro</i>	42
Матросова Л. Е., Домбровский В. О., Хафизова А. М., Танасева С. А., Ермолаева О. К., Софонова А. В., Ерохондина М. А. Гистологические изменения внутренних органов цыплят-бройлеров при воздействии тетрахлорметана и применение кормовой добавки «Гепатопротект»	47
Мухарлямова А. З., Сайфутдинов А. М., Мухамметшина А. Г., Буркин К. Е., Мохтарова С. Л., Сагдеев Э. А., Василевский Н. М. Определение содержания действующего вещества в родентицидном средстве методом жидкостной хроматографии	52
ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ	
Ахунова А. Р. Применение рекомбинантных антигенов вируса классической чумы свиней в дискриминирующих серологических тестах	58
Галеева А. Г., Арсланова А. Ф., Ахунова А. Р., Кузнецова Ю. А., Ефимова М. А. Оптимизация условий полуколичественной иммуноферментной детекции антирабических антител в крови плотоядных	65
Мухаммадиев Рин. С., Мухаммадиев Риш. С., Каримуллина И. Г., Яруллин А. И., Нестерова И. А., Зайнуллин Л. И., Барышев М. Г. Способ гипериммунизации животных для получения гибридных клеток - продуцентов моноклональных антител к бычьему аденоовирусу	73
Равилов Р. Х., Мингалеев Д. Н., Фролов Г. С., Трубкин А. И., Гарипов Л. Н., Ефимова М. А. Конструирование рекомбинантных аденоассоциированных и лентивирусов для экспрессии иммунодоминантных антигенов вируса африканской чумы свиней	81

Спиридов Г. Н., Махмутов А. Ф., Спиридов А. Г., Саматова А. А., Насердинов Д. Д., Дуплева Л. Ш. Изучение биологических свойств <i>E. coli</i> , выделенных от больных эшерихиозом молодняка крупного рогатого скота и свиней.	89
Фролов А. В., Рождественская Т. Н. Сезонность высокопатогенного гриппа птиц в России в период 2005-2023 гг.	95
РАДИОБИОЛОГИЯ	
Ишмухаметов К. Т., Курбангалиев Я. М., Шакуров М. М., Гайнуллин Р. Р., Галлямова М. Ю. Сельскохозяйственные животные как объект радиоэкологического мониторинга	103
Фролов А. В., Вагин К. Н. Низамов Р. Н., Медведев М. И., Трофимов Д. Л., Пашанина Л. М. Оценка эффективности левамизола, дигидрокверцетина и Е-селена в качестве противорадиационных средств для животных	115
БИОТЕХНОЛОГИЯ	
Мухаммадиев Риш. С., Мухаммадиев Рин. С., Хусаинова Г. И., Сорокина Д. А., Фазулзянов И. Р., Шангареев Р. И. Сравнительная оценка <i>in vivo</i> эффективности неперевариваемых углеводов при применении пробиотика на основе штамма <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AS-41	121
Новикова Л. И., Мельник Р. Н., Мельник Н. В., Богомолова О. А., Рысай У. Е., Мингалеев Д. Н., Панкова Е. В., Дунина М. Г. Необходимость предприятий по производству особо- чистых яиц: анализ и перспективы	128
Разин А. Н., Пименов Н. В., Комоско Г. В., Комоско В. Г., Волков М. Ю., Беловолов А. Ю., Сюткина А. С. Производственные испытания препарата из глубинного мицелия базидиомицета	135

СМЕТОВ ПЕТР КУЗЬМИЧ – ОСНОВАТЕЛЬ ОТДЕЛЕНИЯ ТОКСИКОЛОГИИ ВНИВИ



Сметов Петр Кузьмич – фармаколог, токсиколог, терапевт. Родился 03.12.1930 г. в с. Большое Горево Уренского р-на Горьковской (ныне Нижегородской) обл., из крестьян. 1947-1950 гг учился в Лысковском ветеринарном техникуме. После окончания в 1955 г Казанского ветеринарного института им. Н.Э. Баумана 7 лет проработал на производстве в Горьковской области – сначала старшим, а затем – главным ветеринарным врачом.

В 1962 г поступил в аспирантуру при кафедре терапии КВИ, которую окончил в 1965 г. с защитой кандидатской диссертации. После аспирантуры работал на кафедре терапии ассистентом, а затем, с 1969 г. – в лаборатории ветсанзащиты, сначала старшим научным сотрудником и с 1972 г. – заведующим лабораторией. С 1973 по 1997 гг. одновременно заведовал отделом ветеринарной токсикологии. После назначения Сметова Петра Кузьмича произошли широкомасштабные преобразования и перебазирование лаборатории в 1974 г. из учебного здания КВИ в построенную по специальному

номеру проекту и расположенную вне города экспериментальную научно-исследовательскую базу. Сметов П.К. – первый заведующий отделением токсикологии после отделения в 1984 г научной базы из КВИ. На период руководства отделом Сметовым П.К. пришелся расцвет токсикологической науки в Центре, перед учеными ставились чрезвычайно серьезные задачи по токсикологической безопасности.

В 1981 году защитил докторскую диссертацию по спецтеме, а в 1984 г утвержден в звании профессора. Им опубликовано более 400 научных трудов, в т. ч. 3 монографии, 18 наставлений и других научно-технических документов, 95 авторских свидетельств и патентов на изобретения. Под научным руководством П.К. Сметова подготовлено 12 докторов и 30 кандидатов наук.

П.К. Сметов проработал в Казанском ветеринарном институте и во Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте 35 лет, из них 25 лет – заведующим отделом ветеринарной токсикологии. В течение этих лет он исследовал обширный спектр проблем, наиболее актуальных ветеринарной токсикологии, в т.ч. повышение устойчивости животных к токсическим веществам химической и биологической природы; оценка качества продукции животноводства; индикация токсических веществ и их влияние на организм животных; он разрабатывал средства и методы лечения животных при токсикозах, а также занимался проблемами мониторинга окружающей среды.

Под руководством и при непосредственном участии П.К. Сметова создавалась материальная база лабораторий отдела для проведения прецизионных исследований по экологическому мониторингу и оздоровлению объектов ветнадзора и окружающей среды. Это позволило впоследствии создать на базе отдела ветеринарной токсикологии и экологии испытательный центр, укомплектованный научными кадрами и современным оборудованием для проведения физико-химических анализов на современном уровне. В 1993 г он был аккредитован на техническую компетентность в качестве независимого Испытательного центра в системе сертификации Госстандарта РФ для проведения испытаний пищевой и сельскохозяйственной продукции, кормов, продовольственного и лекарственного сырья, а также объектов окружающей среды по критериям безопасности.

П.К. Сметовым выполнены фундаментальные исследования по изучению патогенеза отравлений сельскохозяйственных животных. Эти исследования, определяющие роль адренергических механизмов в развитии и исходе интоксикации животных фосфорорганическими ядами, позволили по-новому подойти к изысканию и разработке средств лечения и профилактики и создать высокоэффективные лечебно-профилактические средства, до сих пор используемые в практике ветеринарной службы страны.

Научная деятельность П.К Сметова характеризует его, как крупного ученого и организатора научных исследований в области токсикологии и экологии. Его исследования нашли признание научной общественности и практических специалистов. Сметов Петр Кузьмич – основоположник

научной школы в области фундаментальных исследований по изучению патогенеза и изысканию препаратов для защиты сельскохозяйственных животных от отравлений фосфорорганическими соединениями и фосфорорганическими веществами. Труды этой школы характеризуются принципиально новым, оригинальным решением проблем предупреждения загрязнения окружающей среды, индикации токсикантов, диагностики и лечения отравлений животных. Изучение патогенеза отравлений лежит в основе теоретического и экспериментального обоснования разработки средств лечения и профилактики, определения реальной токсичности и опасности, а также предельно допустимых количеств высокотоксичных ядов и различного рода токсикантов в окружающей среде и объектах ветеринарного надзора. Научные направления: изучение патогенеза и изыскание препаратов для защиты сельскохозяйственных животных от отравлений фосфорорганическими соединениями и сильно-действующими ядовитыми веществами. Представители научной школы: Д.Ш. Шарипов, Д.А. Кирилюк, А.Н. Уразаев, Р.М. Асланов, В.И. Барабанов, Х.С. Габдраупова, Г.Г. Галяутдинова, Ю.А. Жуков, Н.Н. Жестков, В.В. Кузнецов, В.Н. Курашов, М.М. Латыпов, В.И. Степанов, В.Ю. Титова, Р.М. Хасанова и многие другие. Научные достижения школы: разработаны и внедрены ветеринарные препараты, принятые на вооружение ветеринарной службой страны, имеющие оригинальное направление в разработке проблем предотвращения потерь сельскохозяйственных животных и получения доброкачественной животноводческой продукции.

Профессор Сметов Петр Кузьмич награжден: двумя орденами «Знак Почета»; медалями: «Участник ВОВ 1941-1945 гг.», «Ветеран труда», «Золотая – медаль ВДНХ», медаль «Лауреат ВВЦ»; почетными грамотами – Министерства сельского хозяйства СССР, «Президента Республики Татарстан»; почетными знаками: Ударник 9-ой, 10-ой и 11-ой пятилеток.

Работая на производстве, Петр Кузьмич избирался Депутатом Районного Совета Константиновского р-на, Горьковской обл., являлся членом Ученого Совета института, трех специализированных Советов, членом экспертной комиссии ВНИВИ, членом Научного Совета при Президиуме АН РТ и членом Международной Академии информатизации. Ему присвоены почетные звания Заслуженного деятеля науки Российской Федерации и Заслуженного деятеля науки Республики Татарстан.



Сметов П.К. с сотрудниками отдела токсикологии (1979)



Семья Сметова П.К. Фото 1987 г. 1-й ряд (сидят) слева направо Сметов Петр Кузьмич, Сметова Анна Алексеевна, внук Алексей; 2 –й ряд Сметов Дмитрий Петрович (младший сын), Сметова Татьяна (сноха), Сметов Сергей Петрович (старший сын).

МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ МИКОТОКСИНОВ

Тарас Владимирович Герунов¹, доктор биологических наук, доцент, *tv.gerunov@omgau.org*
 Владимир Иванович Герунов¹, доктор ветеринарных наук, профессор, *vi.gerunov@omgau.org*
 Евгений Александрович Чигринский², доктор биологических наук, доцент, *dr.chigrinski@mail.ru*
 Марина Николаевна Гонохова², кандидат ветеринарных наук, доцент, *gonochova@mail.ru*
 Людмила Карповна Герунова¹, доктор ветеринарных наук, профессор, *lk.gerunova@omgau.org*
 Юрий Николаевич Федоров³, доктор биологических наук, член-корреспондент Российской академии наук, профессор, *fun181@mail.ru*
 Виктория Александровна Лапухова¹, *va.lapukhova1721@omgau.org*

¹ Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, Омск, Российская Федерация

² Омский государственный медицинский университет Минздрава России, Омск, Российская Федерация

³ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, поселок Биокомбинат, Щелковский район, Московская область, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Тарас Владимирович Герунов.

Аннотация. Микотоксины как приоритетные контамианты кормов и сельскохозяйственной продукции представляют потенциальную опасность для животных и общественного здоровья. Усугубляет проблему сочетанное действие на организм микотоксинов и других стресс-факторов, а также способность микотоксинов к миграции по пищевым цепям. Поражая различные органы и ткани, микотоксины вызывают и опасные нейротоксические эффекты. Цель обзора – систематизация и анализ данных по механизмам нейротоксичности микотоксинов. Для этого был проведен поиск информации в таких базах данных как eLIBRARY.RU и PubMed. Поиск выполнялся по ключевым словам попарно, включая «микотоксины» или названия конкретных микотоксинов в сочетании с терминами, отражающими патологию нервной системы, например, «ишемия», «рак мозга», «нейродегенеративные заболевания» и др. Результаты поиска продемонстрировали недостаток соответствующих сведений в научной литературе, при этом имеются фрагментарные данные о действии микотоксинов на центральную и периферическую нервную систему. Микотоксины нарушают работу отдельных клеточных структур нейроцитов или клеток в целом и могут вызывать существенные изменения в функционировании центральной нервной системы. Механизмы нейротоксичности связаны с провокацией развития окислительного стресса, нарушением нейрональных сигнальных путей, митохондриальной дисфункцией, нейровоспалением, нарушением нейрогенеза, гибелью клеток (в том числе за счет индукции апоптоза). При этом микотоксины снижают питательную ценность кормов, нарушают функционирование желудочно-кишечного тракта, в том числе провоцируют развитие дисбиоза и сокращают усвоение фолатов, что вызывает появление дефектов в развитии нервной трубы у позвоночных. Имеются данные о взаимосвязи между действием микотоксинов и развитием нейродегенеративных заболеваний у людей. Оценка нейротоксичности микотоксинов, их комбинаций и сочетаний с другими токсикантами необходима для разработки лечебно-профилактических мероприятий в животноводстве и сохранения общественного здоровья.

Ключевые слова: микотоксины, афлатоксин, Т-2 токсин, охратоксин, зеараленон, дезоксиниваленол, головной мозг, нейротоксичность, нейродегенеративные заболевания, окислительный стресс, апоптоз, нейровоспаление, нейрогенез, димиелинизация

Для цитирования: Герунов Т.В., Герунов В.И., Чигринский Е.А., Гонохова М.Н., Герунова Л.К., Федоров Ю.Н., Лапухова В.А. Механизмы нейротоксичности микотоксинов // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 7 – 16. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_7

MECHANISMS OF MYCOTOXIN NEUROTOXICITY

Taras V. Gerunov¹, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, *tv.gerunov@omgau.org*
 Vladimir I. Gerunov¹, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, *vi.gerunov@omgau.org*
 Eugene A. Chigrinski², Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, *dr.chigrinski@mail.ru*
 Marina N. Gonokhova², Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, *gonochova@mail.ru*
 Liudmila K. Gerunova¹, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, *lk.gerunova@omgau.org*
 Yury N. Fedorov³, Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, *fun189@mail.ru*
 Viktoriya A. Lapukhova¹, *va.lapukhova1721@omgau.org*

¹ Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Omsk, Russian Federation

² Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

³ All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry, Biokombinat settlement, Shchelkovskii District, Moscow Region, Russian Federation

Corresponding author: Taras Vladimirovich Gerunov.

Abstract. Mycotoxins as priority contaminants of feed and agricultural products pose a potential hazard to animals and public health. The problem is aggravated by the combined effect of mycotoxins and other stress factors on the body, as well as the ability of mycotoxins to migrate along the food chain. Affecting various organs and tissues, mycotoxins also cause dangerous neurotoxic effects. The objective of the review is to systematize and analyze data on the mechanisms of mycotoxin neurotoxicity. For this purpose, a search for information was conducted in such databases as eLIBRARY.RU and PubMed. The search was performed by keywords in pairs, including "mycotoxins" or the names of specific mycotoxins in combination with terms reflecting the pathology of the nervous system, for example, "ischemia", "brain cancer", "neurodegenerative diseases", etc. The search results demonstrated a lack of relevant information in the scientific literature, while there are fragmentary data on the effect of mycotoxins on the central and peripheral nervous system. Mycotoxins disrupt the functioning of individual cellular structures of neurons or cells as a whole and can cause significant changes in the functioning of the central nervous system. The mechanisms of neurotoxicity are associated with the provocation of oxidative stress, disruption of neuronal signaling pathways, mitochondrial dysfunction, neuroinflammation, disruption of neurogenesis, cell death (including due to the induction of apoptosis). At the same time, mycotoxins reduce the nutritional value of feed, disrupt the functioning of the gastrointestinal tract, including provoking the development of dysbiosis and reducing the absorption of folates, which causes defects in the development of the neural tube in vertebrates. There is evidence of a relationship between the action of mycotoxins and the development of neurodegenerative diseases in humans. Evaluation of the neurotoxicity of mycotoxins, their combinations and combinations with other toxicants is necessary for the development of therapeutic and preventive measures in animal husbandry and maintaining public health.

Keywords: mycotoxins, aflatoxin, T-2 toxin, ochratoxin, zearalenone, deoxynivalenol, brain, neurotoxicity, neurodegenerative diseases, oxidative stress, apoptosis, neuroinflammation, neurogenesis, demyelination

Введение. Широкое распространение микотоксинов представляет глобальную проблему, связанную со снижением экономической эффективности производства сельскохозяйственной продукции [3, 6, 10, 11, 26] и рисками для общественного здоровья [8, 22, 35]. Поскольку микотоксины часто являются контаминаントами кормов растительного происхождения, они представляют особую опасность для крупных животноводческих предприятий [13]. В литературе широко представлены сведения о влиянии микотоксинов на организм животных и человека. Чаще всего мишениями их действия являются органы репродукции, желудочно-кишечный тракт, печень, почки, иммунная система [21, 34, 36 и др.] и др. При этом влияние микотоксинов на нервную систему долгое время оставалось малозначимым аспектом изучения их токсикодинамики. И хотя данные о роли микотоксинов в развитии патологии головного мозга противоречивы и пока носят дискуссионный характер, есть результаты исследований, свидетельствующие об их потенциальной связи с раком мозга [цит. по 28] и нейродеге-

неративными заболеваниями [33]. Эти проблемы весьма актуальны в современной медицине, а значит требуют особого внимания врачей и других специалистов, работающих в области геронтологии, стремящихся к раскрытию механизмов долголетия и сохранения качества жизни. Усугубляет ситуацию высокая способность микотоксинов к миграции по пищевым цепям [31]. Эти обстоятельства объясняют стремление исследователей к глубокому изучению токсикодинамики микотоксинов, в том числе их нейротоксических эффектов. Потенциальная опасность микотоксинов возрастает при действии на организм других стресс-факторов за счет развития синергетического или аддитивного эффектов, например, на фоне использования в условиях животноводства противопаразитарных препаратов, в том числе при выполнении инсектоакарицидных обработок помещений в присутствии животных [2, 4, 20].

Цель обзора – систематизация и анализ данных по механизмам нейротоксичности микотоксинов.

Материалы и методы. Для систематизации сведений был выполнен поиск информации по ключевым словам на сайте Научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU. Ключевые запросы формулировались как «микотоксины AND нейротоксичность» (результаты поиска – 5 источников), «микотоксины AND ишемия» (результаты поиска – 0 источников), «микотоксины AND инфаркт» (результаты поиска – 0 источников), «микотоксины AND головной мозг» (результаты поиска – 0 источников), «микотоксины AND рак мозга» (результаты поиска – 0 источников), «микотоксины AND нейродегенеративные заболевания» (результаты поиска – 0 источников), а также слово «микотоксины» в комбинации с двумя наиболее известными и распространенными нейродегенеративными заболеваниями «микотоксины AND болезнь Альцгеймера» (результаты поиска – 0 источников), «микотоксины AND болезнь Паркинсона» (результаты поиска – 0 источников). Была также попытка в исключенных парах терминов заменить первое слово на название микотоксинов - афлатоксин, Т-2 токсин, охратокин, зеараленон, дезоксиваленол, но результаты оказались также «почти нулевыми». Поиск указанных комбинаций слов осуществлялся в названии публикации, в аннотации и ключевых словах, при этом возможный тип публикации указывался как статья в журнале, книга, материалы конференции, депонированная рукопись, наборы данных, диссертация, отчет, патент, грант. Все положительные результаты поиска представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты положительного поиска информации по теме обзора на сайте eLIBRARY.RU

Искомая комбинация слов	Количество источников	Примечание
Микотоксины AND нейротоксичность	5	Две статьи в рецензируемых журналах (2024, 2025) и три работы в сборниках трудов конференций (2021, 2024, 2024)
Зеараленон AND нейротоксичность	4	Две статьи в рецензируемых журналах (2024, 2025) и две работы в сборниках трудов конференций (2024, 2024)
Дезоксиваленол AND нейротоксичность	2	Одна статья в рецензируемом журнале (2025) и одна работа в сборнике трудов конференции (2024)
Зеараленон AND инфаркт	1	Отчет о НИР (2020)
Дезоксиваленол AND инфаркт	1	Отчет о НИР (2020)
Афлатоксин AND нейротоксичность	1	Статья в сборнике трудов конференции (2024)
Т-2 токсин AND нейротоксичность	1	Работа в сборнике трудов конференции (2024)
Афлатоксин AND головной мозг	1	Статья в рецензируемом журнале (2016)

Очень ограниченные по информативности полученные результаты способствовали поиску требуемой информации в PubMed с последующим ознакомлением с полнотекстовыми вариантами статей для составления данного мини-обзора.

Результаты исследований и их обсуждение. Полученные в Научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU данные носят очень ограниченный характер и не отражают в целом проблему

нейротоксичности микотоксинов. Из 48 комбинаций слов положительный результат получили по 8 комбинациям (таблица 1), при этом в большинстве случаев выдача ограничивалась одним источником, в ряде случаев регистрировали дублирование результатов выдачи. Отдельно стоит отметить, что полученные таким образом результаты были малоинформативны, так как содержали общие сведения, не раскрывающие особенностей нейротоксического действия микотоксинов, преимущественно было упоминание о нейротоксичности как таковой без примеров и расшифровки механизмов ее развития. Выходные данные отдельных статей, отобранных таким способом и процитированных в этой работе, представлены в списке литературы. Содержание большинства статей из этого перечня не соответствовало цели обзора и не было обсуждено в этой работе.

Менее механистический подход к поиску источников информации по более широкому перечню слов и их комбинаций в отечественных и иностранных базах данных, в том числе с изучением цитируемых источников литературы и последующим изучением указанных первоисточников позволяет сделать некоторые умозаключения о вовлеченности центральной нервной системы в развитие патологического процесса при отравлении микотоксинами.

Прежде всего стоит отметить, что микотоксины способны преодолевать гематоэнцефалический барьер и оказывать непосредственно неблагоприятное воздействие на различные элементы (и прежде всего нейроциты) центральной нервной системы [37]. Опосредованные эффекты реализуются за счет нарушения функционирования других органов и систем, в том числе эндокринной и иммунной систем. Таким образом, на фоне действия микотоксинов мы наблюдаем их разновекторное действие с нарушением иммунонейроэндокринной регуляции гомеостаза [18, 24, 25, 38].

Одним из механизмов нейротоксичности микотоксинов является провокация окислительного стресса. Образование активных форм кислорода (АФК) приводит к повреждению клеточных структур и нарушению их функционирования, в первую очередь липидов, белков и ДНК. Вместе с этим АФК являются элементом модуляции сигнальных путей, включая МАРК (Mitogen-activated protein kinase – митоген-активируемая протеинкиназа). Последняя является высококонсервативным внутриклеточным сигнальным путем и принимает участие в регулировании транскрипции генов, метаболизма, пролиферации, апоптозе и других клеточных процессах. Активация МАРК при микотоксикозе может индуцировать апоптоз нейроцитов и модулировать экспрессию генов, участвующих в реакции на окислительный стресс [12]. К механизмам нейротоксичности при микотоксикозе также относится индукция апоптоза посредством ингибирования сигнального пути Nrf2/HO-1 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 / Hemeoxygenase-1 – ядерный фактор 2, родственный эритроидному фактору 2 / гемоксигеназе-1), чувствительного к окислительному стрессу, и активация белка p53 [41]. В целом окислительный стресс и апоптоз клеток нервной системы посредством активации соответствующих каспаз можно рассматривать как типовой патологический процесс при действии микотоксинов [5, 12].

На примере разных видов клеток продемонстрировано, что микотоксины способны нарушать функции митохондрий, что приводит к снижению синтеза АТФ, например, за счет ингибирования активности всех четырех комплексов митохондриальной цепи переноса электронов [14, 23, 32]. Это запускает реакции клеточного стресса и сопровождается форсированным образованием АФК. Усугубляет ситуацию способность микотоксинов изменять проницаемость митохондрий, вплоть до патологических форм пермеабилизации внешней митохондриальной мембранны с высвобождением проапоптотических белков [23]. Данный феномен часто рассматривают как «точку невозврата» в апоптозе – одной из форм программируемой гибели клеток [9, 40]. Указанные механизмы во многом универсальны и являются причиной митохондриальной дисфункции и потенциального повреждения нейронов.

Одной из особенностей микроглии – клеток врожденного иммунитета, участвующих в поддержании гомеостаза [17], – является высвобождение факторов, провоцирующих развитие нейровоспаления, чрезмерная сила или длительность которого могут носить деструктивный характер. Есть данные, подтверждающие, что клетки микроглии могут быть самостоятельным источником активных форм кислорода, азота и других медиаторов воспаления [7]. При этом активации МАРК-каскада и NF-кВ-каскада клеток микроглии приводит к секреции провоспалительных цитокинов [1]. Иллюстрирует это пример, в котором на фоне действия на микроглию микотоксинов (афлатоксина B1 в концентрации 20 нг/мл) отмечается повышение уровня экспрессии TNF- α , IL-6 и хемокиновых рецепторов CXCR4 [30], что при хронизации процесса может нарушать нейрогенез. Это важно учитывать, так как иммунная и микроглиальная дисфункция вносят свой вклад в патофизиологию нейродегенеративных заболеваний [15].

Микотоксины также способны оказывать токсическое действие на периферическую нервную систему, что может провоцировать появление симптомов, характерных для демиелинизирующих заболеваний, например, рассеянного склероза и хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии и др. Причем потеря миелина может затрагивать чувствительные нервы и/или двигательные нервы [19]. В одном из исследований, выполненных на людях, подвергшихся воздействию микотоксинов, установлено повышение титров всех изотипов (IgA, IgM и IgG) антител к нейроспецифическим антигенам (в том числе основному белку миелина и миелин-ассоциированному гликопротеину), что способствовало развитию нейропатии и нейрофизиологических нарушений [16].

Помимо перечисленных эффектов микотоксины способны снижать питательную ценность кормов, а значит и поступление витаминов, микро- и макроэлементов [39], принимающих участие в развитии и функционировании нервной системы. Кроме этого микотоксины непосредственно влияют на усвоение фолатов. Наиболее ярко этот феномен проявляется у фумонизинов, являющихся распространенными контамиантами кукурузы, которые ингибируют церамидсингазу, вызывая накопление сфинганина и других сфингоидных оснований и их производных, а также истощение сложных сфинголипидов (которыми особо богата нервная ткань), что нарушает функцию некоторых мембранных белков, включая фолат-связывающий белок [29]. Это способствует развитию дефицита фолата и вызывает дефекты в развитии нервной трубы позвоночных. Данный эффект усугубляется обязательными изменениями функционирования желудочно-кишечного тракта и его микрофлоры [27].

Заключение. Изучение нейротоксичности микотоксинов представляет научную и практическую значимость по причине дефицита соответствующих данных и важной роли нервной системы в регуляции всех функций организма. Микотоксины изменяют метаболизм нейроцитов, провоцируя нарушения на субклеточном, клеточном, тканевом, органном и системном уровнях. Механизмы нейротоксичности микотоксинов включают развитие окислительного стресса, нарушение нейрональных сигнальных путей, дисфункцию митохондрий, провокацию нейровоспаления, изменение нейrogenеза, индукцию апоптоза и других форм гибели клеток. В последнее время подтверждается этиологически значимая роль микотоксинов в развитии нейродегенеративных заболеваний, что принципиально важно учитывать при разработке здоровьесберегающих технологий и подходов по минимизации присутствия микотоксинов в кормах для животных и продуктах питания для людей.

Список источников

1. Борисов К.Е., Сакаева Д.Д. Иммуносупрессивное микроокружение злокачественных глиом // Архив патологии. – 2015. – Т.77, №6. – С. 54-63.
2. Герунов Т.В., Герунов В.И., Федоров Ю.Н., Гонохова М.Н., Крючек Я.О. Сочетанное действие микотоксинов и эприномектина как фактор риска иммуносупрессии у свиней // Ветеринарный врач. – 2023. – № 6. – С. 4-9.
3. Герунов Т.В., Герунова Л.К., Симонова И.А., Крючек Я.О. Сочетанное поражение кормов микотоксинами как фактор риска множественной патологии животных // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2022. – № 4(48). – С. 116-123.
4. Герунова Л.К., Герунов Т.В., Шитиков В.В., Гонохова М.Н., Герунов В.И., Крючек Я.О., Тарасенко А.А. Микотоксины и эприномектин: потенциальные риски при сочетанном действии на организм животных // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2023. – № 1(49). – С. 84-92.
5. Гойванович Н.К. Влияние афлатоксина B1 на прооксидантно-антиоксидантный баланс в клетках белых крыс // Біологія тварин. – 2016. – Т. 18, № 3. – С. 17-22. doi: 10.15407/animbiol18.03.017.
6. Левитин М.М., Джавахия В.Г. Токсигенные грибы и проблемы продовольственной безопасности (обзор) // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – № 34(12). – С. 5-11.
7. Малиновская Н.А., Фролова О.В., Шишлова К.О., Панина Ю.А. Современные технологии выделения и культивирования микроглии (обзор) // Современные технологии в медицине. – 2021. – №13(6). – С. 89-102.
8. Мишина Н.Н., Вафин Ф.Р., Нургалиева А.Р., Хасиятуллин А.Ф., Софонова А.В., Матросова Л.Е., Семёнов Э.И. Современное состояние проблемы деконтаминации пищевых продуктов и сельскохозяйственной продукции от микотоксинов (обзор) // Ветеринарный врач. – 2025. – № 3. – С. 20-26.
9. Новодережкина Е.А., Животовский Б.Д., Гогвадзе В.Г. Индукция неспецифической проницаемости митохондриальной мембраны и ее роль в гибели клеток // Молекулярная биология. – 2016. – Т. 50, № 1. – С. 51-68.

10. Поляк Ю.М., Сухаревич В.И. Токсины почвенных микроскопических грибов: распространение, экологическая роль, биодеградация // Агрохимия. – 2023. – № 10. – С. 87-96.
11. Семенов Э.И., Мишина Н.Н., Мухарлямова А.З., Шлямина О.В., Василевский Н.М., Сайфутдинов А.М. Микотоксины в органах как диагностический фактор и индикатор наличия микотоксинов в кормах // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2025. – № 2. – С. 67-77.
12. Abia W.A., Fouopouapouognigni Y., Nfombouot H.P.N., Ngoungoure L.V.N., Ntungwe E.N., Salah-Abbès J.B., Tchana A.N. A scoping review on mycotoxin-induced neurotoxicity // Discov Toxicol. – 2025. – N 2. – pp. 1. doi: 10.1007/s44339-024-00013-7
13. Akinmoladun O.F., Fon F.N., Nji Q., Adeniji O.O., Tangni E.K., Njobeh P.B. Multiple Mycotoxin Contamination in Livestock Feed: Implications for Animal Health, Productivity, and Food Safety // Toxins. – 2025. – N 17(8). – pp. 365. doi: 10.3390/toxins17080365
14. Awuchi C.G., Ondari E.N., Ogbonna C.U., Upadhyay A.K., Baran K., Okpala C.O.R., Korzeniowska M., Guiné R.P.F. Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans, and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention, and Detoxification Strategies-A Revisit // Foods. – 2021. – N 10(6). – pp. 1279. doi: 10.3390/foods10061279.
15. Bonham L.W., Karch C.M., Fan C.C., Tan C., Geier E.G., Wang Y., Wen N., Broce I.J., Li Y., Barkovich M.J., Ferrari R., Hardy J., Momeni P., Höglinder G., Müller U., Hess C.P., Sugrue L.P., Dillon W.P., Schellenberg G.D., Miller B.L., Andreassen O.A., Dale A.M., Barkovich A.J., Yokoyama J.S., Desikan R.S.; International FTD-Genomics Consortium (IFGC); International Parkinson's Disease Genetics Consortium (IPDGC); International Genomics of Alzheimer's Project (IGAP). CXCR4 involvement in neurodegenerative diseases // Transl Psychiatry. – 2018. – N 8(1). – pp. 73. doi: 10.1038/s41398-017-0049-7.
16. Campbell A.W., Thrasher J.D., Madison R.A., Vojdani A., Gray M.R., Johnson A. Neural autoantibodies and neurophysiologic abnormalities in patients exposed to molds in water-damaged buildings // Arch Environ Health. – 2003. – N 58(8). – pp. 464-74. doi: 10.3200/AEOH.58.8.464-474.
17. Casali B.T., Reed-Geaghan E.G. Microglial Function and Regulation during Development, Homeostasis and Alzheimer's Disease // Cells. – 2021. – N 10(4). – pp. 957. doi: 10.3390/cells10040957.
18. Demaegdt H., Daminet B., Evrard A., Scippo M.L., Muller M., Pussemier L., Callebaut A., Vandermeiren K. Endocrine activity of mycotoxins and mycotoxin mixtures // Food Chem Toxicol. – 2016. – N 96. – pp. 107-16. doi: 10.1016/j.fct.2016.07.033.
19. Ehsanifar M., Rajati R., Gholami A., Reiss J.P. Mold and Mycotoxin Exposure and Brain Disorders // J Integr Neurosci. – 2023. – N 22(6). – pp. 137. doi: 10.31083/j.jin2206137.
20. Fu Y., Yin S., Zhao C., Fan L., Hu H. Combined toxicity of food-borne mycotoxins and heavy metals or pesticides // Toxicon. – 2022. – N 217. – pp. 148-154. doi: 10.1016/j.toxicon.2022.08.012.
21. Fung F., Clark R.F. Health effects of mycotoxins: a toxicological overview // J Toxicol Clin Toxicol. – 2004. – N 42(2). – pp. 217-34. doi: 10.1081/ct-120030947.
22. Goessens T., Mouchtaris-Michailidis T., Tesfamariam K., Truong N.N., Vertriest F., Bader Y., De Saege S., Lachat C., De Boevre M. Dietary mycotoxin exposure and human health risks: A protocol for a systematic review // Environ Int. – 2024. – N 184. – pp. 108456. doi: 10.1016/j.envint.2024.108456.
23. Islam M.T., Mishra S.K., Tripathi S., de Alencar M.V.O.B., E Sousa J.M.C., Rolim H.M.L., de Medeiros M.D.G.F., Ferreira P.M.P., Rouf R., Uddin S.J., Mubarak M.S., Melo-Cavalcante A.A.C. Mycotoxin-assisted mitochondrial dysfunction and cytotoxicity: Unexploited tools against proliferative disorders // IUBMB Life. – 2018. – N 70(11). – pp. 1084-1092. doi: 10.1002/iub.1932.
24. Khan R., Anwar F., Ghazali F.M. A comprehensive review of mycotoxins: Toxicology, detection, and effective mitigation approaches // Heliyon. – 2024. – N 10(8). – pp. e28361. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e28361.
25. Kuć-Szymanek A., Kubik-Machura D., Kościelecka K., Męćik-Kronenberg T., Radko L. Neurotoxicological Effects of Some Mycotoxins on Humans Health and Methods of Neuroprotection // Toxins (Basel). – 2025. – N 7(1). – pp. 24. doi: 10.3390/toxins17010024.
26. Leslie J.F., Moretti A., Mesterházy Á., Ameye M., Audenaert K., Singh P.K., Richard-Forget F., Chulze S.N., Ponte E.M.D., Chala A., Battilani P., Logrieco A.F. Key Global Actions for Mycotoxin Management in Wheat and Other Small Grains // Toxins (Basel). – 2021. – N 13(10). – pp. 725. doi: 10.3390/toxins13100725.
27. Liew W.P., Mohd-Redzwan S. Mycotoxin: Its Impact on Gut Health and Microbiota // Front Cell Infect Microbiol. – 2018. – N 8. – pp. 60. doi: 10.3389/fcimb.2018.00060.

28. Makhlof M.M.M. Histological and ultrastructural study of AflatoxinB1 induced neurotoxicity in Sciatic nerve of adult male Albino rats // Ultrastruct Pathol. – 2020. – N44(1). – pp. 52-60. doi:10.1080/01913123.2019.1709933.

29. Marasas W.F., Riley R.T., Hendricks K.A., Stevens V.L., Sadler T.W., Gelineau-van Waes J., Missmer S.A., Cabrera J., Torres O., Gelderblom W.C., Allegood J., Martínez C., Maddox J., Miller J.D., Starr L., Sullards M.C., Roman A.V., Voss K.A., Wang E., Merrill A.H.Jr. Fumonisins disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize // J Nutr. – 2004. – N 134(4). – pp. 711-6. doi: 10.1093/jn/134.4.711.

30. Mehrzad J., Malvandi A.M., Alipour M., Hosseinkhani S. Environmentally relevant level of aflatoxin B₁ elicits toxic pro-inflammatory response in murine CNS-derived cells // Toxicol Lett. – 2017. – N 279. – pp. 96-106. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.07.902.

31. Milićević D.R., Skrinjar M., Baltić T. Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control // Toxins (Basel). – 2010. – N 2(4). – pp. 572-92. doi: 10.3390/toxins2040572.

32. Moloi T.P., Ziqubu K., Mazibuko-Mbeje S.E., Mabaso N.H., Ndlovu Z. Aflatoxin B₁-induced hepatotoxicity through mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and inflammation as central pathological mechanisms: A review of experimental evidence // Toxicology. – 2024. – N 509. – pp. 153983. doi: 10.1016/j.tox.2024.153983.

33. Nguyen V.T.T., König S., Eggert S., Endres K., Kins S. The role of mycotoxins in neurodegenerative diseases: current state of the art and future perspectives of research // Biol Chem. – 2021. – N 403(1). – pp. 3-26. doi: 10.1515/hsz-2021-0214.

34. Niaz W., Iqbal S.Z., Ahmad K., Majid A., Haider W., Li X. Mycotoxins: A comprehensive review of its global trends in major cereals, advancements in chromatographic detections and future prospectives // Food Chem X. – 2025. – N 27. – pp. 102350. doi: 10.1016/j.fochx.2025.102350.

35. Omotayo O.P., Omotayo A.O., Mwanza M., Babalola O.O. Prevalence of Mycotoxins and Their Consequences on Human Health // Toxicol Res. – 2019. – N 35(1). – pp. 1-7. doi: 10.5487/TR.2019.35.1.001.

36. Shekhar R., Raghavendra V.B., Rachitha P. A comprehensive review of mycotoxins, their toxicity, and innovative detoxification methods // Toxicol Rep. – 2025. – N 14. – pp. 101952. doi: 10.1016/j.toxrep.2025.101952.

37. Song C., Wang Z., Cao J., Dong Y., Chen Y. Neurotoxic mechanisms of mycotoxins: Focus on aflatoxin B1 and T-2 toxin // Environ Pollut. – 2024. – N 356. – pp. 124359. doi: 10.1016/j.envpol.2024.124359.

38. Sun Y., Huang K., Long M., Yang S., Zhang Y. An update on immunotoxicity and mechanisms of action of six environmental mycotoxins // Food Chem Toxicol. – 2022. – N 163. – pp. 112895. doi: 10.1016/j.fct.2022.112895.

39. Xu R., Kiarie E.G., Yiannikouris A., Sun L., Karrow N.A. Nutritional impact of mycotoxins in food animal production and strategies for mitigation // J Anim Sci Biotechnol. – 2022. – N 13(1). – pp. 69. doi: 10.1186/s40104-022-00714-2.

40. Yapruntseva M.A., Zhivotovsky B., Gogvadze V. Permeabilization of the outer mitochondrial membrane: Mechanisms and consequences // Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. – 2024. – N 1870(7). – pp. 167317. doi: 10.1016/j.bbadi.2024.167317.

41. Zhang X., Wang Y., Velkov T., Tang S., Dai C. T-2 toxin-induced toxicity in neuroblastoma-2a cells involves the generation of reactive oxygen, mitochondrial dysfunction and inhibition of Nrf2/HO-1 pathway // Food Chem Toxicol. – 2018. – N 114. – pp. 88-97. doi: 10.1016/j.fct.2018.02.010.

References

1. Borisov K.E., Sakaeva D.D. The immunosuppressive microenvironment of malignant gliomas // Arhiv patologii. – 2015. – Vol.77, No 6. – P. 54-63.
2. Gerunov T.V., Gerunov V.I., Fedorov Yu.N., Gonokhova M.N., Kryuchek Ya.O. Combined effect of mycotoxins and eprinomectin as a factor causing immunosuppression in pigs // Veterinarnyj vrach. – 2023. – No 6. – P. 4-9.
3. Gerunov T.V., Gerunova L.K., Simonova I.A., Kryuchek Ya.O. Ombined damage to feed by mycotoxins as a risk factor for development of multiple pathologies in animals // Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2022. – No 4(48). – P. 116-123.

4. Gerunova L.K., Gerunov T.V., Shitikov V.V., Gonokhova M.N., Gerunov V.I., Kryuchek Ya.O., Tarasenko A.A. Mycotoxins and eprinomectin: potential risks in case of combined action on the animal organism // Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2023. – No 1(49). – P. 84-92.
5. Hoyvanovych N.K. Influence of aflatoxin b1 on prooxidant-antioxidant balance in cells of white rats // Biologiya tvarin. – 2016. – Vol. 18, No 3. – P. 17-22. doi: 10.15407/animbiol18.03.017.
6. Levitin M.M., Dzhavakhiya V.G. Toxigenic fungi and food security issues (review) // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2020. – No 34(12). – P. 5-11.
7. Malinovskaya N.A., Frolova O.V., Shishelova K.O., Panina Yu.A. Current methods for the isolation and cultivation of microglia (review) // Sovremennye tekhnologii v medicine. – 2021. – No 13(6). – P. 89-102.
8. Mishina N.N., Vafin F.R., Nurgalieva A.R., Khasiyatullin A.F., Sofronova A.V., Matrosova L.E., Semenov E.I. The current state of the problem of decontamination of food and agricultural products from mycotoxins (review) // Veterinarnyj vrach. – 2025. – No 3. – P. 20-26.
9. Novoderezhkina E.A., Zhivotovsky B.D., Gogvadze V.G. Induction of unspecific permeabilization of mitochondrial membrane and its role in cell death // Molekulyarnaya biologiya. – 2016. – Vol. 50, No 1. – P. 51-68.
10. Polyak Yu.M., Sukharevich V.I. Toxins produced by soil fungi: distribution, ecological role, biodegradation // Agrohimiya. – 2023. – No 10. – P. 87-96.
11. Semenov E.I., Mishina N.N., Mukharlyamova A.Z., Shlyamina O.V., Vasilevsky N.M., Saifutdinov A.M. Mycotoxins in organs as a diagnostic factor and indicator of the presence of mycotoxins in feed // Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya. – 2025. – No 2. – P. 67-77.
12. Abia W.A., Fouppouapouognigni Y., Nfombouot H.P.N., Ngoungoure L.V.N., Ntungwe E.N., Salah-Abbès J.B., Tchana A.N. A scoping review on mycotoxin-induced neurotoxicity // Discov Toxicol. – 2025. – No 2. – P. 1. doi: 10.1007/s44339-024-00013-7
13. Akinmoladun O.F., Fon F.N., Nji Q., Adeniji O.O., Tangni E.K., Njobeh P.B. Multiple Mycotoxin Contamination in Livestock Feed: Implications for Animal Health, Productivity, and Food Safety // Toxins. – 2025. – No 17(8). – P. 365. doi: 10.3390/toxins17080365
14. Awuchi C.G., Ondari E.N., Ogbonna C.U., Upadhyay A.K., Baran K., Okpala C.O.R., Korzeniowska M., Guiné R.P.F. Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans, and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention, and Detoxification Strategies-A Revisit // Foods. – 2021. – No 10(6). – P. 1279. doi: 10.3390/foods10061279.
15. Bonham L.W., Karch C.M., Fan C.C., Tan C., Geier E.G., Wang Y., Wen N., Broce I.J., Li Y., Barkovich M.J., Ferrari R., Hardy J., Momeni P., Höglinger G., Müller U., Hess C.P., Sugrue L.P., Dillon W.P., Schellenberg G.D., Miller B.L., Andreassen O.A., Dale A.M., Barkovich A.J., Yokoyama J.S., Desikan R.S.; International FTD-Genomics Consortium (IFGC); International Parkinson's Disease Genetics Consortium (IPDGC); International Genomics of Alzheimer's Project (IGAP). CXCR4 involvement in neurodegenerative diseases // Transl Psychiatry. – 2018. – No 8(1). – P. 73. doi: 10.1038/s41398-017-0049-7.
16. Campbell A.W., Thrasher J.D., Madison R.A., Vojdani A., Gray M.R., Johnson A. Neural autoantibodies and neurophysiologic abnormalities in patients exposed to molds in water-damaged buildings // Arch Environ Health. – 2003. – No 58(8). – P. 464-74. doi: 10.3200/AEOH.58.8.464-474.
17. Casali B.T., Reed-Geaghan E.G. Microglial Function and Regulation during Development, Homeostasis and Alzheimer's Disease // Cells. – 2021. – No 10(4). – P. 957. doi: 10.3390/cells10040957.
18. Demaege H., Daminet B., Evrard A., Scippo M.L., Muller M., Pussemier L., Callebaut A., Vandermeiren K. Endocrine activity of mycotoxins and mycotoxin mixtures // Food Chem Toxicol. – 2016. – No 96. – P. 107-16. doi: 10.1016/j.fct.2016.07.033.
19. Ehsanifar M., Rajati R., Gholami A., Reiss J.P. Mold and Mycotoxin Exposure and Brain Disorders // J Integr Neurosci. – 2023. – No 22(6). – P. 137. doi: 10.31083/j.jin2206137.
20. Fu Y., Yin S., Zhao C., Fan L., Hu H. Combined toxicity of food-borne mycotoxins and heavy metals or pesticides // Toxicon. – 2022. – No 217. – P. 148-154. doi: 10.1016/j.toxicon.2022.08.012.
21. Fung F., Clark R.F. Health effects of mycotoxins: a toxicological overview // J Toxicol Clin Toxicol. – 2004. – No 42(2). – P. 217-34. doi: 10.1081/clt-120030947.
22. Goessens T., Mouchtaris-Michailidis T., Tesfamariam K., Truong N.N., Vertriest F., Bader Y., De Saege S., Lachat C., De Boevre M. Dietary mycotoxin exposure and human health risks: A protocol for a systematic review // Environ Int. – 2024. – No 184. – P. 108456. doi: 10.1016/j.envint.2024.108456.
23. Islam M.T., Mishra S.K., Tripathi S., de Alencar M.V.O.B., E Sousa J.M.C., Rolim H.M.L., de Medeiros M.D.G.F., Ferreira P.M.P., Rouf R., Uddin S.J., Mubarak M.S., Melo-Cavalcante A.A.C. Mycotoxin-

assisted mitochondrial dysfunction and cytotoxicity: Unexploited tools against proliferative disorders // IUBMB Life. – 2018. – No 70(11). – P. 1084-1092. doi: 10.1002/iub.1932.

24. Khan R., Anwar F., Ghazali F.M. A comprehensive review of mycotoxins: Toxicology, detection, and effective mitigation approaches // Heliyon. – 2024. – No 10(8). – P. e28361. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e28361.
25. Kuć-Szymańek A., Kubik-Machura D., Kościelecka K., Męcik-Kronenberg T., Radko L. Neurotoxicological Effects of Some Mycotoxins on Humans Health and Methods of Neuroprotection // Toxins (Basel). – 2025. – No 7(1). – P. 24. doi: 10.3390/toxins17010024.
26. Leslie J.F., Moretti A., Mesterházy Á., Ameye M., Audenaert K., Singh P.K., Richard-Forget F., Chulze S.N., Ponte E.M.D., Chala A., Battilani P., Logrieco A.F. Key Global Actions for Mycotoxin Management in Wheat and Other Small Grains // Toxins (Basel). – 2021. – No 13(10). – P. 725. doi: 10.3390/toxins13100725.
27. Liew W.P., Mohd-Redzwan S. Mycotoxin: Its Impact on Gut Health and Microbiota // Front Cell Infect Microbiol. – 2018. – No 8. – P. 60. doi: 10.3389/fcimb.2018.00060.
28. Makhlof M.M.M. Histological and ultrastructural study of AflatoxinB1 induced neurotoxicity in Sciatic nerve of adult male Albino rats // Ultrastruct Pathol. – 2020. – No 44(1). – P. 52-60. doi: 10.1080/01913123.2019.1709933.
29. Marasas W.F., Riley R.T., Hendricks K.A., Stevens V.L., Sadler T.W., Gelineau-van Waes J., Missmer S.A., Cabrera J., Torres O., Gelderblom W.C., Allegood J., Martínez C., Maddox J., Miller J.D., Starr L., Sullards M.C., Roman A.V., Voss K.A., Wang E., Merrill A.H.Jr. Fumonisins disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize // J Nutr. – 2004. – No 134(4). – P. 711-6. doi: 10.1093/jn/134.4.711.
30. Mehrzad J., Malvandi A.M., Alipour M., Hosseinkhani S. Environmentally relevant level of aflatoxin B₁ elicits toxic pro-inflammatory response in murine CNS-derived cells // Toxicol Lett. – 2017. – No 279. – P. 96-106. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.07.902.
31. Milićević D.R., Skrinjar M., Baltić T. Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control // Toxins (Basel). – 2010. – No 2(4). – P. 572-92. doi: 10.3390/toxins2040572.
32. Moloi T.P., Ziqubu K., Mazibuko-Mbeje S.E., Mabaso N.H., Ndlovu Z. Aflatoxin B₁-induced hepatotoxicity through mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and inflammation as central pathological mechanisms: A review of experimental evidence // Toxicology. – 2024. – No 509. – P. 153983. doi: 10.1016/j.tox.2024.153983.
33. Nguyen V.T.T., König S., Eggert S., Endres K., Kins S. The role of mycotoxins in neurodegenerative diseases: current state of the art and future perspectives of research // Biol Chem. – 2021. – No 403(1). – P. 3-26. doi: 10.1515/hsz-2021-0214.
34. Niaz W., Iqbal S.Z., Ahmad K., Majid A., Haider W., Li X. Mycotoxins: A comprehensive review of its global trends in major cereals, advancements in chromatographic detections and future prospectives // Food Chem X. – 2025. – No 27. – P. 102350. doi: 10.1016/j.fochx.2025.102350.
35. Omotayo O.P., Omotayo A.O., Mwanza M., Babalola O.O. Prevalence of Mycotoxins and Their Consequences on Human Health // Toxicol Res. – 2019. – No 35(1). – P. 1-7. doi: 10.5487/TR.2019.35.1.001.
36. Shekhar R., Raghavendra V.B., Rachitha P. A comprehensive review of mycotoxins, their toxicity, and innovative detoxification methods // Toxicol Rep. – 2025. – No 14. – P. 101952. doi: 10.1016/j.toxrep.2025.101952.
37. Song C., Wang Z., Cao J., Dong Y., Chen Y. Neurotoxic mechanisms of mycotoxins: Focus on aflatoxin B1 and T-2 toxin // Environ Pollut. – 2024. – No 356. – P. 124359. doi: 10.1016/j.envpol.2024.124359.
38. Sun Y., Huang K., Long M., Yang S., Zhang Y. An update on immunotoxicity and mechanisms of action of six environmental mycotoxins // Food Chem Toxicol. – 2022. – No 163. – P. 112895. doi: 10.1016/j.fct.2022.112895.
39. Xu R., Kiarie E.G., Yiannikouris A., Sun L., Karow N.A. Nutritional impact of mycotoxins in food animal production and strategies for mitigation // J Anim Sci Biotechnol. – 2022. – No 13(1). – P. 69. doi: 10.1186/s40104-022-00714-2.
40. Yapryntseva M.A., Zhivotovsky B., Gogvadze V. Permeabilization of the outer mitochondrial membrane: Mechanisms and consequences // Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. – 2024. – No 1870(7). – P. 167317. doi: 10.1016/j.bbdis.2024.167317.

41. Zhang X., Wang Y., Velkov T., Tang S., Dai C. T-2 toxin-induced toxicity in neuroblastoma-2a cells involves the generation of reactive oxygen, mitochondrial dysfunction and inhibition of Nrf2/HO-1 pathway // Food Chem Toxicol. – 2018. – No 114. – P. 88-97. doi: 10.1016/j.fct.2018.02.010.

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 11.08.2025;

© Герунов Т.В., Герунов В.И., Чигринский Е.А., Гонохова М.Н., Герунова Л.К., Федоров Ю.Н.,
Лапухова В.А. 2025

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 17 – 23
 The Veterinarian. 2025; (5): 17 – 23

Научная статья
 УДК 619:615.916
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_17

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КАДМИЯ И СВИНЦА НА ОРГАНИЗМ БЕЛЫХ КРЫС

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

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань,
 Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку: Ильнур Равилевич Кадиков.

Аннотация. Тяжелые металлы обладают способностью постепенно накапливаться в организме, проявляют свою токсичность при низких концентрациях и отрицательно влияют на здоровье человека и животных. Из-за высокой токсичности и способности усиливать действие друг друга, токсичные элементы представляют серьёзную угрозу, которая приводит к нарушениям в функционировании физиологических систем снижая устойчивость к патологиям. В настоящем исследовании оценивалась эффективность ряда комплексообразующих соединений в условиях экспериментального металлотоксикоза у лабораторных животных вызванных кадмием и свинцом. Эксперимент был прошёл на 30 белых крысах массой тела 180–190 г в течение 30 дней. Животных распределили на 5 групп по 6 особей в каждой. Первая группа служила биологическим контролем. Вторая группа (токсический контроль) получала с кормом кадмий ($CdCl_2$) в дозе 0,15 мг/кг корма и свинец ($Pb (CH_3 COO)_2$) — 25 мг/кг корма. Третья группа получала те же дозы кадмия и свинца, но дополнительно — натрия сульфид в количестве 10 мг/кг массы тела. Четвёртой группе, наряду с металлами, вводили препарат на основе тетраазатрицикло соединения (ТА), который добавляли в питьевую воду в виде 0,05% раствора. Пятой группе животных одновременно вводили соли металлов, препарат «ТА» и натрия сульфид в указанных выше дозах. Проведённые исследования показали, что применение экспериментального препарата на основе тетраазатрицикло соединения (ТА) в виде 0,05% раствора в сочетании с сульфидом натрия в дозе 10 мг/кг оказывает защитное действие при поступлении в организм белых крыс солей кадмия и свинца. Комбинированное использование этих веществ при экспериментальном металлотоксикозе способствовало уменьшению токсического воздействия, которое характеризовалось снижением концентрации малонового диальдегида в крови и металлотионеина в сыворотке, а также снижением содержания кадмия и свинца в органах.

Ключевые слова: кадмий, свинец, комплексообразующие соединения, малоновый диальдегид, металлотионеин

Для цитирования: Кадиков И.Р. Куршакова Е.И., Сагдеев Д.Р., Рахматуллин Э.К., Майорова Е.Н., Вафин И.Ф., Корчемкин А.А. Эффективность комплексообразующих соединений при воздействии кадмия и свинца на организм белых крыс // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 17 – 23. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_17

EFFECTIVENESS OF COMPLEX-FORMING COMPOUNDS IN THE INFLUENCE OF CADMIUM AND LEAD ON THE ORGANISM OF WHITE RATS

Iljur R. Kadikov, Doctor of Biological Sciences, cir6@yandex.ru
 Ekaterina I. Kurshakova, Candidate of Biological Sciences, keter-89@mail.ru

Danil R. Sagdeev, Candidate of Veterinary Sciences, sagdeevdaniel@mail.ru
 Emil K. Rakhmatullin, Doctor of Veterinary Sciences, amil59@yandex.ru
 Ekaterina N. Mayorova, Candidate of Biological Sciences, majorovaen83
 Iskander F. Vafin, Candidate of Biological Sciences, millu84@rambler.ru
 Andrey A. Korchemkin, Candidate of Biological Sciences, yzkiy@mail.ru

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

Corresponding author: Ilnur Ravilevich Kadikov.

Abstract. Heavy metals have the ability to gradually accumulate in the body, exhibit their toxicity at low concentrations, and have a negative impact on human and animal health. Due to their high toxicity and the ability to enhance each other's effects, toxic elements pose a significant threat, leading to disruptions in the functioning of physiological systems and reducing resistance to pathologies. In this study, the effectiveness of a range of complexing compounds was evaluated in experimental metal toxicity induced by cadmium and lead in laboratory animals. The experiment was conducted on 30 white rats weighing 180-190 g for 30 days. The animals were divided into 5 groups of 6 rats each. The first group served as the biological control. The second group (toxic control) received cadmium (CdCl_2) at a dose of 0.15 mg/kg of feed and lead ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) at a dose of 25 mg/kg of feed. The third group received the same doses of cadmium and lead, but also sodium sulfide at a dose of 10 mg/kg of body weight. The fourth group received a tetraazatri-cyclo compound (TA) solution added to their drinking water at a concentration of 0.05%. The fifth group received the same doses of metal salts, TA solution, and sodium sulfide. The conducted studies have shown that the use of an experimental drug based on tetraazatricyclo-compound (TA) in the form of a 0.05% solution in combination with sodium sulfide at a dose of 10 mg/kg has a protective effect when cadmium and lead salts are administered to white rats. The combined use of these substances in experimental metallotoxicosis reduced the toxic effect, which was characterized by a decrease in the concentration of malondialdehyde in the blood and metallothionein in the serum, as well as a decrease in the content of cadmium and lead in the organs.

Keywords: Cadmium, lead, complex-forming compounds, malondialdehyde, metallothionein

Введение. Глобальные системы производства оказывают значительное негативное влияние на окружающую среду, здоровье человека и животных. При этом используемые природные ресурсы зачастую возвращаются в экосистему в виде отходов, большинство из которых токсичны и могут загрязнять сельскохозяйственные угодья [1, 2]. Среди химических отходов преобладают неорганические соединения, в том числе токсичные металлы — такие как кадмий, свинец, ртуть и другие, — которые играют важную роль в антропогенном загрязнении окружающей среды [3, 4]. Попадая в организм, эти элементы вызывают необратимые патологические изменения, снижают продуктивность сельскохозяйственных животных и ухудшают качество продукции животноводства [5, 6].

Токсичные металлы после поступления в организм распределяются по тканям и преимущественно накапливаются в печени и почках [7,8]. Из-за высокой экотоксичности, способности накапливаться в организме и усиливать действие друг друга, токсичные элементы представляют серьёзную угрозу, которая приводит к нарушениям в функционировании физиологических систем снижая устойчивость к патологиям [9, 10].

Одним из эффективных подходов к детоксикации организма человека и животных является применение комплексообразующих веществ, способных связывать токсичные катионы и способствовать их выведению. К таким веществам относится, в частности, натрия сульфид, который, подобно натрия тиосульфату, проявляет хелатирующую активность при интоксикации [11]. Однако его эффективность снижается при одновременном воздействии нескольких ксенобиотиков.

Определённый научный и практический интерес представляют малоизученные тетраазатрициклосоединения [12], обладающие свойствами комплексонов. По мимо этого данные соединения в составе кормовых добавок демонстрируют положительное влияние на продуктивность животных [13].

Материалы и методы. Эксперимент был проведён на 30 белых крысах массой тела 180–190 г в течение 30 дней. Животные были распределены на 5 групп по 6 особей в каждой. Первая группа служила биологическим контролем. Вторая группа (токсический контроль) получала с кормом кадмий (CdCl_2) в дозе 0,15 мг/кг корма и свинец ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) — 25 мг/кг корма. Третья группа получала те же дозы кадмия и свинца, но дополнительно — натрия сульфид в количестве 10 мг/кг массы

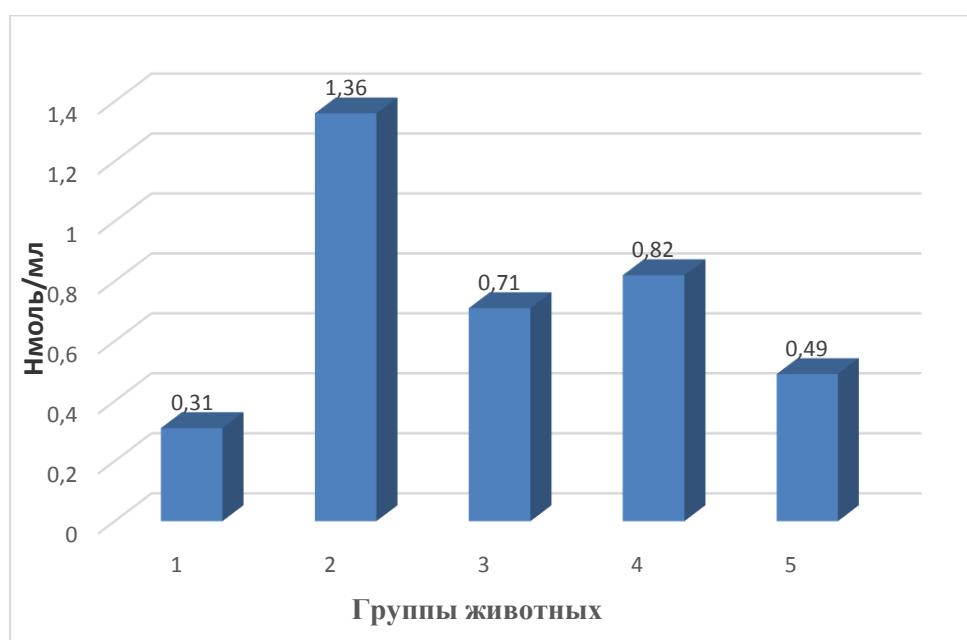
тела. Четвёртой группе, наряду с металлами, вводили препарат на основе ТА (экспериментальный образец на основе тетраазатрициклосоединения, разработчик – ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), который добавляли в питьевую воду в виде 0,05% раствора. Пятой группе животных одновременно вводили соли металлов, препарат «ТА» и натрия сульфид в указанных выше дозах.

Степень интенсивности процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по накоплению вторичных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [14]. Концентрацию МДА определяли по методу описанным Шафраном Л.М. (2003) [15]. Количество кадмия и свинца отслеживали методом атомной абсорбции для изучения степени их накопления и распределения в печени и почках на анализаторе AAC Perkin Elmer AAnalyst 200.

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту на персональном компьютере с использованием программ Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе опыта у крыс, получавших кадмий и свинец, отмечали угнетенность и снижение аппетита. В остальных подопытных группах видимых изменений в поведении животных не наблюдали.

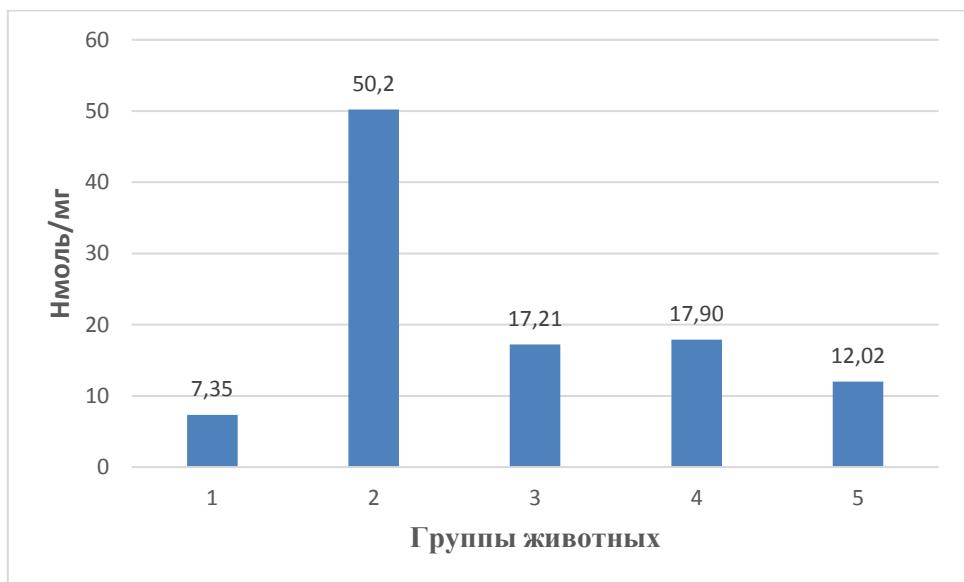
Рисунок 1 – Содержание МДА в крови белых крыс на 30 сутки исследования



В патогенезе отравлений, существенную роль играет активация процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) в результате которого образуется МДА. Данный продукт ПОЛ имеет важное диагностическое значение, его рассматривают в качестве маркера оксидативного стресса. Данный показатель у животных получавших только соли металлов увеличивался в 4,5 раза по сравнению с биологическим контролем. У белых крыс третьей, четвертой и пятой групп которые получали препараты концентрация МДА снижалась в 2,9; 1.6 и 2,7 раза в сравнении с токсическим контролем (рисунок 1).

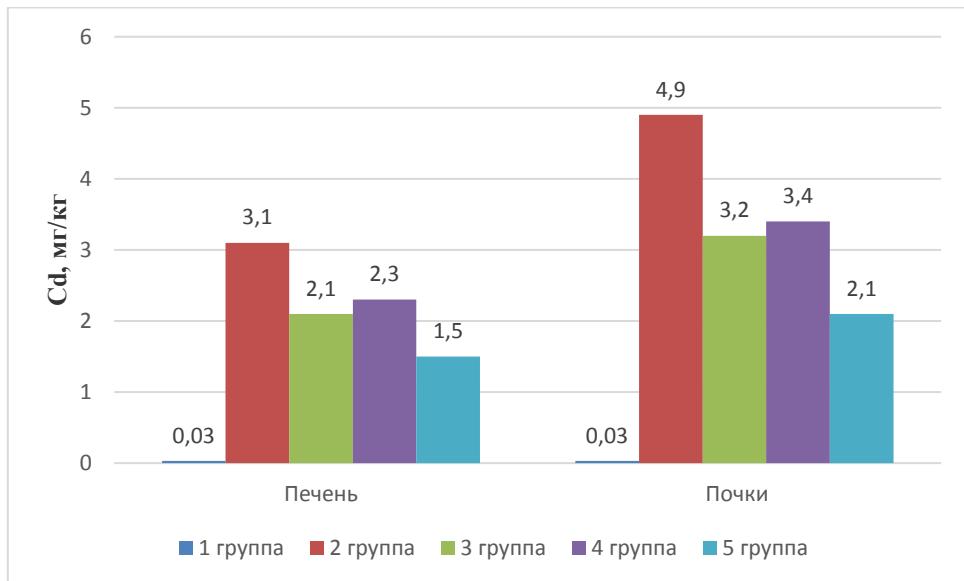
Одним из диагностических маркеров отравления тяжелыми металлами считаются металлотионеины (МТН), которые синтезируются организмом в ответ на поступление тяжёлых металлов. Отмечается полифункциональность данных низкомолекулярных белков (транспорт ионов металлов, поддержание окислительно-восстановительных реакций, протекторная, сигнальная, модулирующая и регулирующая функции) и их влияние на такие базовые клеточные функции, как пролиферация, дифференцировка, апоптоз.

Рисунок 2 – Содержание металлотионеина в плазме крови белых крыс на 30 сутки исследования



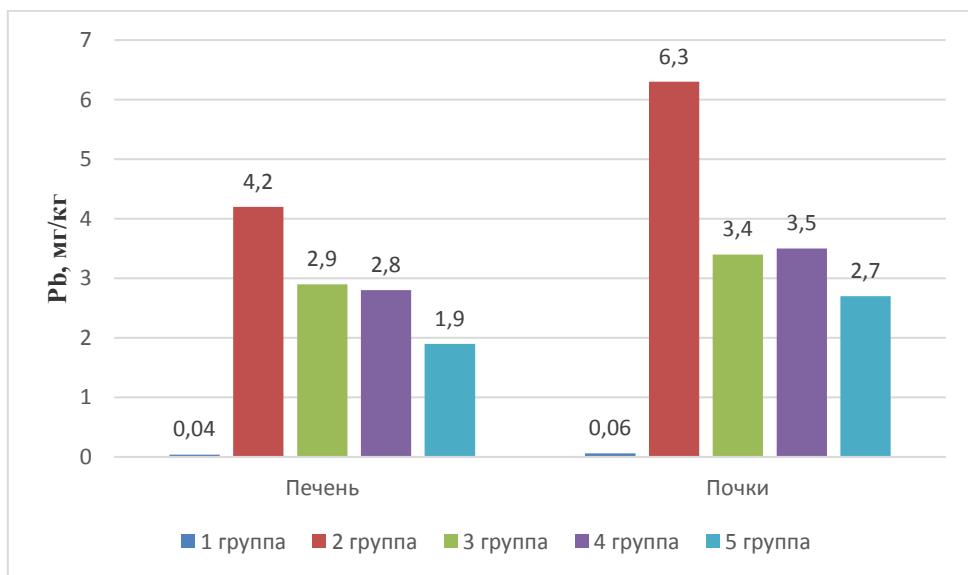
Как видно из рисунка 2, в плазме крови белых крыс, получавших обычный рацион (биологический контроль) концентрация МТН составила 7,35 мкмоль/мл. У крыс, получавших совместно соли кадмия и свинца (вторая группа) концентрация МТН достигла до 50,20 мкмоль/мл. У животных получавших препараты (третья, четвертая и пятая группы) отмечалось снижение содержания данного белка к 30 сут в среднем до 12,02-17,21 мкмоль/мл.

Рисунок 3 – Содержание кадмия в печени и почках белых крыс на 30 сутки исследования



Для определения загрязняющих веществ, таких как тяжелые металлы используют инструментальные методы современной аналитической химии, в частности метод атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) [16]. Химико-токсикологический анализ тяжелых металлов так же показал эффективность применяемых комплексообразующих соединений. На диаграмме, представленной на рисунке 3 отражены данные по содержанию кадмия в печени и почках крыс. Так в группе получавших экотоксиканты, концентрация исследуемого металла увеличивалась до 3,1 и 4,9 мг/кг. У белых крыс третьей группы концентрация кадмия снижалась до 2,1 мг/кг в печени и до 3,2 мг/кг в почках. Такая же тенденция прослеживалась в четвертой группе, где показатель составил 2,3 и 3,4 мг/кг, а в пятой - 1,5 и 2,1 мг/кг.

Рисунок 4 – Содержание свинца в печени и почках белых крыс на 30 сутки исследования



Из рисунка 4 видно, что у животных второй группы содержание свинца увеличивалось до 4,2 мг/кг в печени и до 6,3 мг/кг в почках. У животных получавших препараты так же наблюдалось снижение данного элемента в органах. В третьей группе белых крыс количество свинца в печени и почках составило 2,9 и 3,4 мг/кг, в четвертой – 2,8 и 3,5 мг/кг, в пятой – 1,9 и 2,7 мг/кг.

Заключение. Таким образом, проведённые исследования показали, что применение экспериментального препарата на основе тетраазатрициклосоединения (ТА) в виде 0,05% раствора в сочетании с сульфидом натрия в дозе 10 мг/кг оказывает защитное действие при поступлении в организм белых крыс солей кадмия и свинца. Комбинированное использование этих веществ при экспериментальном металлотоксикозе способствовало уменьшению токсического воздействия, которое характеризовалось снижением концентрации малонового диальдегида в крови и металлотионеина в сыворотке. Помимо этого, введение препаратов способствовало снижению содержания кадмия и свинца в органах в 2 – 2,5 раза относительно токсического контроля.

Список источников

1. Сердюкова, А. Ф. Загрязнение окружающей среды отходами производств / А. Ф. Сердюкова, Д. А. Барабанчиков // Молодой ученый. — 2018. — № 25 (211). — С. 28-31.
2. Степанова, М. В. Содержание тяжелых металлов и мышьяка в почвах сельскохозяйственного назначения / М. В. Степанова, В. А. Остапенко, А. П. Каледин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2020. — № 6(86). — С. 15-21.
3. Епимахов, В. Г. Моделирование поступления кадмия, свинца, ртути и мышьяка в организм жвачных животных с рационом и перехода в продукцию животноводства / В. Г. Епимахов // Бюллетень науки и практики. — 2023. — Т. 9. — № 3. — С. 138-146.
4. Wieczorek, J. Assessment of the pollution and ecological risk of lead and cadmium in soils / J. Wieczorek, A. Baran, K. Urbański, R. Mazurek, A. Klimowicz-Pawlas // Environ Geochem Health. — 2018. — Vol. 40. — P. 2325-2342.
5. Ежкова, А. М. Содержание тяжелых металлов в говядине при различной степени техногенной нагрузки / А. М. Ежкова, А. Х. Яппаров, В. О. Ежков, Р. Н. Файзрахманов, Г. Я. Сафиуллина, Д. В. Ежков, М. Г. Газизов // Вестник технологического университета. — 2016. — Т.19. — №20. — С. 179-182.
6. Сагдеев, Д. Р. Ветеринарно-санитарная оценка мяса овец при контаминации корма поллютантами и применении сорбента в смеси с адаптогенами / Д. Р. Сагдеев, И. Р. Кадиков, З. Х. Сагдеева, П. В. Софонов // Ветеринарный врач. — 2022. — № 4. — С. 48-53.
7. Heba, M. Abdou Protective Role of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid against Lead Acetate-Induced Toxicity in Liver and Kidney of Female Rats /Heba M. Abdou, Mohamed A. Hassan // Biomed Res Int. — 2014. — 435857, 11.

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, Э. К. Рахматуллин, И. Ф. Вафин, А. А. Корчемкин, Е. Н. Майорова // Ветеринарный врач. – 2025. – № 2. – С. 49-54.
9. Andjelkovic, Milena Toxic Effect of Acute Cadmium and Lead Exposure in Rat Blood, Liver, and Kidney / Milena Andjelkovic, Aleksandra Buha Djordjevic, Evica Antonijevic, Biljana Antonijevic, Momcilo Stanic, Jelena Kotur-Stevuljevic, Vesna Spasojevic-Kalimanovska, Milos Jovanovic, Novica Boricic, David Wallace, Zorica Bulat // Int. J. Environ. Res. Public Health – 2019 – 16 (2), 274.
10. Arroyo, Verónica Souza Liver and Cadmium Toxicity / Verónica Souza Arroyo, Karina Martínez Flores, Leticia Bucio Ortiz, Luis Enrique Gómez-Quiroz, María Concepción Gutiérrez-Ruiz // Journal of Drug Metabolism & Toxicology. – 2012 – S5: 001.
11. Вафин, И. Ф. Лечебное действие натрия сульфида и цеолита при сочетанном отравлении животных диоксином и кадмия хлоридом / И. Ф. Вафин, И. Р. Кадиков, В. А. Новиков // Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии: сборник материалов второго съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России. – 2009. – С. 403-406.
12. Маланьев, А. В. Изучение интенсивности перекисного окисления липидов при отравлении имидаклопридом на фоне лечения антитоксическими веществами / А. В. Маланьев, Н. Н. Мишина, Г. Р. Ямалова, К. Ф. Халикова, Д. В. Алеев, Г. Г. Галяутдинова // Инновационные решения актуальных вопросов биологической, токсикологической и радиационной безопасности для АПК: сборник материалов по итогам Международной научно-практической конференции, посвящённой памяти профессора Х.Х. Абдуллина, Казань. – 2024. – С. 429-431.
13. Семёнов, Э. И. Испытания рецептур кормовой добавки для яичного птицеводства Э. И. Семёнов, Г. Н. Нигматулин, А. Ю. Лихачева, Н. М. Васильевский // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2021. – Т. 7. – № 3 (27). – С. 251-259.
14. Кондрахин, И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко, Г. А. Таланов, Л. А. Фролова, В. Э. Новиков // справочник. – М.: Колос, 2004. – 520 с.
15. Шафран, Л. М. Металлотионеин как биомаркер в эксперименте и клинике /Л. М. Шафран, Е. Г. Пихтеева, Д. В. Большой // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – №9. – С. 60-65.
16. Тремасова, А. М. Диагностика и ветеринарная помощь при отравлениях животных А. М. Тремасова, И. И. Идиятов, Э. И. Семёнов, Л. Е. Матросова, И. Р. Кадиков, Ж. Р. Насыбуллина (Общие принципы) / Казань, 2022.

References

1. Serdyukova, A. F. Environmental pollution by industrial waste / A. F. Serdyukova, D. A. Barabanshchikov // Young Scientist. — 2018. — № 25 (211). — Pp. 28-31. — URL: <https://moluch.ru/archive/211/51589> / (date of reference: 02/11/2025).
2. Stepanova, M. V. The content of heavy metals and arsenic in agricultural soils / M. V. Stepanova, V. A. Ostapenko, A. P. Kaledin // Proceedings of the Orenburg State Agrarian University. – 2020. – № 6(86). – Pp. 15-21.
3. Epimakhov, V. G. Modeling of the intake of cadmium, lead, mercury and arsenic into the body of ruminants with a diet and the transition to livestock products // Bulletin of Science and Practice. – 2023. – Vol. 9. – №. 3. – pp. 138-146. URL: item.asp?id=50403785 (accessed: 06/10/2025).
4. Wieczorek, J. Assessment of the pollution and ecological risk of lead and cadmium in soils / J. Wieczorek, A. Baran, K. Urbansky, R. Mazurek, A. Klimowicz-Pawlas // Environ Geochem Health. – 2018. – Vol. 40. – P. 2325-2342.
5. Yezhkova, A.M. The content of heavy metals in beef at various degrees of anthropogenic stress / A.M. Yezhkova, A. H. Yapparov, V. O. Yezhkov, R. N. Fayzrakhmanov, G. Ya. Safiullina, D. V. Yezhkov, M. G. Gazizov // Bulletin of the Technological University. - 2016. – Vol. 19. – №. 20. – pp. 179-182.
6. Sagdeev, D. R. Veterinary and sanitary assessment of sheep meat during contamination of feed with pollutants and the use of sorbent mixed with adaptogens / D. R. Sagdeev, I. R. Kadikov, Z. H. Sagdeeva, P. V. Sofronov // Veterinarian. – 2022. – No. 4. – pp. 48-53.

7. Heba, M. Abdou Protective Role of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid against Lead Acetate-Induced Toxicity in Liver and Kidney of Female Rats /Heba M. Abdou, Mohamed A. Hassan // Biomed Res Int. – 2014. – 435857, 11.
8. Kurshakova, E. I. The use of a complex drug for based on modified bentonite during contamination of feed with toxic elements / E. I. Kurshakova, I. R. Kadikov, D. R. Sagdeev, E. K. Rakhmatullin, I. F. Vafin, A. A. Korchemkin, E. N. Mayorova // Veterinarian. – 2025. – No. 2. – pp. 49-54.
9. Andjelkovic, Milena Toxic Effect of Acute Cadmium and Lead Exposure in Rat Blood, Liver, and Kidney / Milena Andjelkovic, Aleksandra Buha Djordjevic, Evica Antonijevic, Biljana Antonijevic, Momcilo Stanic, Jelena Kotur-Stevuljevic, Vesna Spasojevic-Kalimanovska, Milos Jovanovic, Novica Boricic, David Wallace, Zorica Bulat // Int. J. Environ. Res. Public Health – 2019 – 16 (2), 274.
10. Arroyo, Verónica Souza Liver and Cadmium Toxicity / Verónica Souza Arroyo, Karina Martínez Flores, Leticia Bucio Ortiz, Luis Enrique Gómez-Quiroz, María Concepción Gutiérrez-Ruiz // Journal of Drug Metabolism & Toxicology. – 2012 – S5:001.
11. Vafin, I. F. Therapeutic effect of sodium sulfide and zeolite in combined poisoning of animals with dioxin and cadmium chloride / I. F. Vafin, I. R. Kadikov, V. A. Novikov // Modern problems of veterinary pharmacology and toxicology: proceedings of the second Congress of Veterinary Pharmacologists and toxicologists of Russia. - 2009. – pp. 403-406.
12. Malanyev, A.V. Study of the intensity of lipid peroxidation in imidacloprid poisoning during treatment with antitoxic substances / A.V. Malanyev, N. N. Mishina, G. R. Yamalova, K. F. Khalikova, D. V. Aleev, G. G. Galyautdinova // Innovative solutions to topical issues of biological, toxicological and radiation safety for agriculture: a collection of materials on the results of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the memory of Professor H.H. Abdullin, Kazan. - 2024. – pp. 429-431.
13. Semenov, E. I. Testing of formulations of feed additives for egg poultry farming E. I. Semenov, G. N. Nigmatulin, A. Yu. Likhacheva, N. M. Vasilevsky // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic sciences. – 2021. – T. 7. – № 3 (27). – Pp. 251-259.
14. Kondrakhin, I. P. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics / I. P. Kondrakhin, A.V. Arkhipov, V. I. Levchenko, G. A. Talanov, L. A. Frolova, V. E. Novikov // handbook. – M.: Kolos, 2004. – 520 p.
15. Shafran, L. M. Metallothionein as a biomarker in experiment and clinic /L. M. Shafran, E. G. Pihteeva, D. V. Bolshoy // Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2011. No. 9. pp. 60-65.
16. Tremasova, A.M. Diagnostics and veterinary care for animal poisoning A.M. Tremasova, I. I. Idiyatov, E. I. Semenov, L. E. Matrosova, I. R. Kadikov, J. R. Nasybullina (General principles) / Kazan, 2022.

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 26.08.2025;

© Кадиков И.Р. Куршакова Е.И., Сагдеев Д.Р., Рахматуллин Э.К., Майорова Е.Н., Вафин И.Ф., Корчекин А.А. 2025

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 24 – 29
 The Veterinarian. 2025; (5): 24 – 29

Научная статья
 УДК 636.087.7:636.5
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_24

ЗАЩИТА ОРГАНИЗМА ПЕРЕПЕЛОВ ОТ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПОСРЕДСТВОМ ПРИРОДНОГО АНТИОКСИДАНТА

Надия Радиковна Касанова¹, кандидат сельскохозяйственных наук, *nadia-kasanova@mail.ru*

Екатерина Евгеньевна Головкова¹, *kate.miller.26@bk.ru*

Дарья Александровна Валиуллина¹, кандидат сельскохозяйственных наук, *dashavaliullina@mail.ru*

Марина Юрьевна Галлямова², *marina_rb@inbox.ru*

¹ Казанский государственный аграрный университет, Казань, Российская Федерация

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

Автор, ответственный за переписку: Надия Радиковна Касанова.

Аннотация. В связи с ростом востребованности продуктов птицеводства в России, технология выращивания птиц в производственных условиях становится всё интенсивнее, что является основным фактором стресса и приводит к необходимости поддерживать систему антиоксидантной защиты организма птиц. В работе представлены результаты эксперимента по применению в рационах перепелов каротиноида антиоксиданта астаксантина в целях защиты организма птиц от свободнорадикального окисления. Добавка каротиноида астаксантина была введена в повседневный рацион птенцов в дозах: 5,7 мг/кг и 11,4 мг/кг живой массы. Ежедневно, в течение 38 дней опыта, проводился контроль поедаемости корма, сохранности поголовья, физиологического статуса птиц, показателей температуры и влажности в помещении. В последние сутки опыта производили забор крови для определения морфо-биохимического анализа и показателей антиоксидантной защиты организма птенцов (катализ, супероксиддисмутаза, малоновый диальдегид). Установлено, что среднее содержание общего белка и альбуминов в группе, получавшей добавку в дозе 5,7 мг/кг, было выше, чем в контрольной группе: на 4,9 % по белку и на 7,4 % по альбумину. Объем эритроцитов и количество гемоглобина в опытных группах № 2 и № 3 были выше в среднем на 40,6 % и 10,1 %. Значения печеночных трансаминаз АСТ и АЛТ в группах № 2 и № 3 были ниже, чем в контрольной в среднем на 16,4 % и 38,6 %. Введение антиоксиданта в рацион перепелов привело к повышению активности катализы и СОД в опытных группах на 16,9-23,6 % и 2-5,6 % и достоверному снижению МДА в сыворотке крови перепелов опытных групп на 58,2-69,4 %. Полученные результаты свидетельствуют о лучшей сопротивляемости организма окислительному стрессу и защите клеток от действия свободных радикалов у перепелов, получавших антиоксидант астаксантин.

Ключевые слова: птицеводство, перепела, антиоксидант, каротиноиды, кровь, комбикорма

Для цитирования: Касанова Н. Р., Головкова Е. Е., Валиуллина Д. А., Галлямова М. Ю. Защита организма перепелов от свободнорадикального окисления посредством природного антиоксиданта // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 24 – 29. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_24

PROTECTING QUAILS FROM FREE RADICAL OXIDATION WITH A NATURAL ANTIOXIDANT

Nadiya R. Kasanova¹, candidate of agricultural sciences, *nadia-kasanova@mail.ru*

Ekaterina E. Golovkova¹, *kate.miller.26@bk.ru*

Daria A. Valiullina¹, candidate of agricultural sciences, *dashavaliullina@mail.ru*

Marina Y. Gallyamova², *marina_rb@inbox.ru*

¹ Kazan State Agrarian University, Kazan, Russian Federation

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

Abstract. Due to the growing demand for poultry products in Russia, the technology of raising birds in industrial conditions is becoming increasingly intensive, which is a major stress factor and leads to the need to support the birds' antioxidant defense system. This paper presents the results of an experiment using the antioxidant carotenoid astaxanthin in quail diets to protect the birds from free radical oxidation. Astaxanthin was added to the chicks' daily diet at doses of 5.7 mg/kg and 11.4 mg/kg of live weight. Every day, during the 38 days of the experiment, the feed consumption, the safety of the livestock, the physiological status of the birds, and the temperature and humidity indicators in the room were monitored. On the last day of the experiment, blood was collected to determine the morpho-biochemical analysis and indicators of antioxidant protection of the chicks' bodies (catalase, superoxide dismutase, malondialdehyde). It was found that the average content of total protein and albumin in the group receiving the supplement at a dose of 5.7 mg/kg was higher than in the control group: by 4.9% for protein and by 7.4 % for albumin. The volume of erythrocytes and the amount of hemoglobin in experimental groups No. 2 and No. 3 were higher by an average of 40.6 % and 10.1 %. The values of liver transaminases AST and ALT in groups No. 2 and No. 3 were lower than in the control group by an average of 16.4% and 38.6%. The introduction of an antioxidant into the diet of quails led to an increase in the activity of catalase and SOD in the experimental groups by 16.9-23.6 % and 2-5.6 % and a significant decrease in MDA in the blood serum of quails in the experimental groups by 58.2-69.4 %. The results obtained indicate better resistance to oxidative stress and protection of cells from the effects of free radicals in quails treated with the antioxidant astaxanthin.

Keywords: poultry farming, quails, antioxidant, carotenoids, blood, compound feed

Введение. В России отрасль птицеводства занимает лидирующее место по производству мяса и яиц, темпы роста данной отрасли ежегодно увеличиваются. По прогнозам Роспотребнадзора в 2025 году производство яиц возрастет до 39,5 млрд. шт., а мяса птицы – до 5,34 млн. тонн. В ближайшие пять лет ожидается дальнейший рост потребления мяса в стране, при этом продукция птицеводства, как наиболее доступная, будет играть ключевую роль. Увеличение спроса обусловлено не только объемом, но и видовым разнообразием птицы [10].

Расширение предлагаемого ассортимента продукции птицеводства продиктовано, в том числе, и стремлением населения к здоровому образу жизни и долголетию. Для России одним из сравнительно новых направлений по производству диетической продукции является перепеловодство. Биологической особенностью данного вида птиц является скороспелость, они быстро достигают половой зрелости [9]. А мясо перепелов отличается высокими вкусовыми качествами и пользой [4, 8].

Как и любая другая отрасль птицеводства, перепеловодство, в связи с интенсивной технологией выращивания птиц, требует определенных мощностей, которые не могут не отражаться на продуктивном здоровье птиц. К основным негативным факторам можно отнести различные дефициты рационов кормления и условия содержания. Зачастую, птицы, находясь в условиях замкнутых помещений, испытывают многочисленные виды стресса, что приводит к накоплению различных форм свободных радикалов в организме [6], которые нарушают биохимические процессы жизнедеятельности в клетках и тканях, и как следствие, приводят к патологиям, снижению продуктивности и рентабельности отрасли [3]. Для сокращения факторов риска необходимо своевременно укреплять и поддерживать систему антиоксидантной защиты организма птиц [1].

От негативного воздействия активных форм кислорода физиологически здоровый организм защищается многоуровневой антиоксидантной системой [7], однако, при недостаточности функционирования иммунной и кроветворной систем уровень антиоксидантов может снизиться, что может вызвать признаки окислительного стресса [5]. Одним из способов повышения защиты организма от действия свободных радикалов и окислительного стресса является включение в рационы питания птиц каротиноидов - антиоксидантов. Особенностью химического строения каротиноидов является наличие цепочки сопряженных чередующихся двойных связей, что и обуславливает антиоксидантную активность данных пигментов [11, 12].

Целью исследования стало изучение возможности защиты организма перепелов от свободно-радикального окисления применением в рационе каротиноида антиоксиданта астаксантина.

Материалы и методы. Научный опыт проводили в условиях вивария Казанского государственного аграрного университета (г. Казань, Республика Татарстан). В эксперименте использовали перепелов породы Фараон. Всего было сформировано 3 группы птиц 4-х суточного возраста по 25 голов в каждой. Первая группа служила контролем и получала сбалансированный комбикорм промышленного приготовления. В рационы подопытных групп перепелов в течение 38 дней вводили добавку каротиноида астаксантина в различных дозах: 2 подопытная группа – 5,7 мг/кг живой массы, 3 подопытная – 11,4 мг/кг. В период опыта проводили учет поедаемости корма, сохранности поголовья,

физиологического статуса птенцов, показателей температуры и влажности в помещении. В конце опытного периода у 5 голов из каждой группы брали кровь для определения морфо-биохимического анализа и показателей антиоксидантной защиты организма птенцов. В крови определяли количество форменных элементов, гемоглобин, уровень белка и альбуминов, глюкозы, мочевины, щелочной фосфатазы, количество аспартат- и аланинаминотрансфераз, креатинина на биохимическом анализаторе Chemray 240 Rayto со стандартным набором реактивов.

Для определения уровня активности каталазы крови использовали метод М.А. Королюк. Суть метода заключается в способности фермента каталазы преобразовывать субстрат (H_2O_2) с образованием комплекса, окрашенного в желтый цвет, и определением оптической плотности проб. Расчет активности производили по формуле [2].

Кроме этого, определяли количество малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови по методу Ю.А. Владимира. Этот метод неспецифический и основан на возможности образования окрашенного комплекса при взаимодействии МДА с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Концентрацию МДА определяли спектрофотометрически по интенсивности окраски. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Mindray BS 240, основанном на установлении степени торможения реакции окисления кверцетина ферментом СОД, при длине волны 406 нм [2].

Статистическую значимость различий между опытными и контрольной группами оценивали по t -критерию Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Изучение морфо-биохимических показателей крови птиц помогает установить наличие нежелательных процессов в организме. Полученные в результате исследования данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Морфо-биохимические показатели крови молодняка перепелов

Показатель	1 контрольная	2 подопытная	3 подопытная
Количество эритроцитов, $10^{12}/л$	$3,82 \pm 0,25$	$2,80 \pm 0,32^*$	$3,42 \pm 0,38$
Средний объём эритроцитов, пкл	$126,82 \pm 6,57$	$198,30 \pm 2,46^{***}$	$158,32 \pm 6,25^*$
Количество лейкоцитов, $10^9/л$	$8,75 \pm 0,88$	$6,87 \pm 0,62^*$	$8,12 \pm 1,19$
Гемоглобин, г/л	$146,50 \pm 4,33$	$161,25 \pm 5,79^{**}$	$149,9 \pm 6,01$
Общий белок, г/л	$35,22 \pm 1,97$	$36,95 \pm 1,98$	$33,74 \pm 1,63$
Альбумины, г/л	$14,92 \pm 2,44$	$16,04 \pm 2,31$	$12,08 \pm 1,20$
Мочевина, ммоль/л	$2,94 \pm 1,01$	$2,41 \pm 0,66$	$1,72 \pm 0,42$
Щелочная фосфатаза (ЩФ), ед/л	$468,60 \pm 24,40$	$430,80 \pm 39,16$	$417,80 \pm 36,91$
Аспартатаминотрансфераза (АСТ), ед/л	$317,88 \pm 29,83$	$283,94 \pm 39,53$	$247,64 \pm 23,28$
Аланинаминотрансфераза (АЛТ), ед/л	$58,92 \pm 6,37$	$44,08 \pm 5,03^*$	$28,36 \pm 6,41^{**}$
Креатинин, мкмоль/л	$30,40 \pm 2,99$	$27,80 \pm 5,09$	$40,80 \pm 3,56$
Глюкоза, ммоль/л	$13,87 \pm 0,51$	$14,47 \pm 0,69$	$15,70 \pm 0,32$

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$

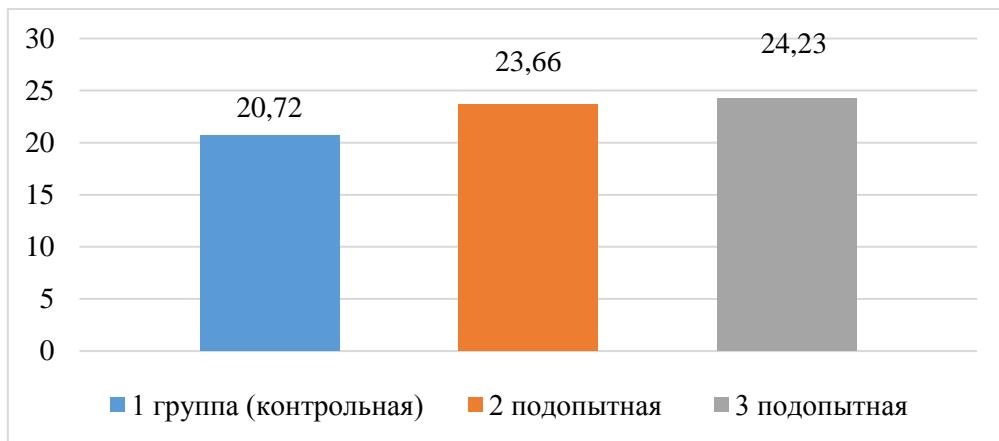
Из полученных данных, представленных в таблице 1 следует, что показатели количества эритроцитов и лейкоцитов во 2 группе были достоверно ниже, чем в контрольной группе на 26,7 % и 21,5 % соответственно, в 3 группе достоверной разницы по данным показателям не установлено. Однако показатели среднего объёма эритроцитов в опытных группах превышали контрольную: во 2 группе на 56,4 %, в 3 группе – на 24,8 %. Содержание гемоглобина в 1 и 3 группах значительно не различалось, а во 2 группе данный показатель был выше, чем в контрольной на 10,1 %.

Концентрация общего белка и альбуминов в крови перепелов контрольной и подопытных групп находилась в пределах референтных значений, однако максимальное содержание отмечалось во 2 группе, разница с контролем составила 4,9 % и 7,5 % соответственно. Различий по уровню содержания мочевины между группами не установлено. В группах применения добавки каротиноида астаксантина отмечено снижение фермента ЩФ и трансаминаз АСТ и АЛТ в среднем на 9,5 % (ЩФ), 16,4 % (АСТ) и 38,6 % (АЛТ) соответственно. Наиболее низкое содержание креатинина отмечалось во 2 опытной группе и составило 27,80 мкмоль/л, что ниже, чем в контрольной на 8,6 %. В 3 группе данный показатель был выше, чем в контрольной на 34,2 %. Количество глюкозы в сыворотке крови

перепелов подопытных групп было несколько выше, чем в 1 (контрольной), но достоверных различий установлено не было.

Фермент каталаза сыворотки крови является основным звеном работы антиоксидантной системы организма, которая активируется при увеличении количества свободных радикалов в клетках тканей организма. Полученные в ходе исследования данные по активности каталазы в крови перепелов представлены на рисунке 1.

Рисунок 1 – Активность каталазы в крови перепелов разных групп, ед/л



Максимальный уровень активности каталазы отмечался у птиц 3 группы и составил 24,23 ед/л, и был выше, чем в контрольной группе на 16,9 %. У животных 2 группы данный показатель составил 23,66 ед/л, что оказалось выше, чем в контрольной группе на 14,2 %.

Супероксиддисмутаза (СОД) также относится к ферментам антиоксидантной системы организма. СОД является индуцируемым ферментом, катализирует реакцию превращения супероксидных анионов в пероксид водорода, предотвращая повреждение биополимеров от свободнорадикального повреждения. Малоновый диальдегид (МДА) – продукт свободнорадикального окисления липидов. Повышение концентрации МДА в сыворотке крови является маркером усиления реакций перекисного окисления липидов и отражает степень окислительного стресса. Активность СОД и МДА в сыворотке крови птиц опытных групп представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели активности СОД и МДА в сыворотке крови перепелов

Показатель	Группа		
	1 контрольная	2 подопытная	3 подопытная
Супероксиддисмутаза (СОД), ед/л	126,81±2,05	133,9±1,15*	129,26±0,37
Малоновый диальдегид (МДА) ед/л	3,56±0,26	1,49±0,17***	1,09±0,23***

Исследования показали, что активность СОД в сыворотке крови перепелов контрольной группы находилась в пределах 97,57 ед/л. Максимальная активность фермента отмечалась во 2 группе и была выше, чем в 1 контрольной группе на 5,6 % (или 7,09 ед/л). В 3 группе данный показатель был выше, чем в контрольной на 2 %.

Концентрация МДА в сыворотке крови птиц контрольной группы составила 3,56 ед/л. Скармливание оксигенированного каротиноида астаксантина привело к снижению образования МДА в опытных группах: во 2 группе разница с контролем составила 58,2 %, в 3 группе – 69,4 %.

Заключение. Таким образом, результаты исследования позволили установить, что введение в рацион молодняку перепелов добавки природного каротиноида астаксантина оказалось определенное положительное влияние на биохимические показатели крови, так средний объем эритроцитов и количество гемоглобина в опытных группах были выше, чем контрольной, что свидетельствует о лучшем насыщении клеток кислородом. Среднее содержание общего белка и альбуминов в группе, получавшей каротиноид астаксантин в дозе 5,7 мг/кг живой массы, было выше, чем в контрольной

группе: на 4,9 % по белку и на 7,4 % по альбумину. Значения печеночных трансаминаз АСТ и АЛТ в подопытных группах были ниже, чем в контрольной. Повышение активности каталазы и СОД и достоверное снижение МДА в сыворотке крови перепелов, получавших антиоксидант астаксантин, свидетельствует о лучшей сопротивляемости организма окислительному стрессу и защите клеток от действия свободных радикалов.

Финансирование исследования. Работа выполнена за счет гранта Академии наук Республики Татарстан, предоставленного молодым кандидатам наук (постдокторантам) с целью защиты докторской диссертации, выполнения научно-исследовательских работ, а также выполнения трудовых функций в научных и образовательных организациях Республики Татарстан «Научно-технологическое развитие Республики Татарстан» (г. Казань) (соглашение №148/2024-ПД от 16.12.2024).

Список источников

1. Боряев, Г. И. Влияние комплекса антиоксидантных препаратов на продуктивность птицы родительского стада и качество инкубационных яиц / Г. И. Боряев, Е. В. Здоровьева, Ю. Н. Федоров, Ю. В. Кравченко // Нива Поволжья. – 2012. – №. 3. – С. 49-55.
2. Галлямова, М. Ю. Влияние ионизирующего излучения на активность антиоксидантных ферментов штамма *Escherichiacoli* "ПЛ-6" при многократном облучении / М. Ю. Галлямова, К. Н. Вагин, Т. Р. Гайнутдинов [и др.] // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2024. – Т. 33, № 1. – С. 68-76.
3. Головкова, Е. Е. Источники антиоксидантов и их применение при выращивании животных / Е. Е. Головкова, Д. А. Чуян, Н. Р. Касanova, Д. А. Валиуллина, Р. И. Михайлова // Ветеринарная медицина в XXI веке: роль биотехнологий и цифровых технологий : Материалы III Международной научно-практической конференции, Витебск - Самарканд, 30 января 2025 года. – Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2025. – С. 223-227.
4. Гусарова, М. Л. Системный мониторинг отдельных показателей безопасности птицеводческой продукции / М. Л. Гусарова, Е. С. Баранович, Н. И. Волкова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 4. – С. 57-63.
5. Киреев, И. В. Лечебно-профилактическая эффективность нового антиоксидантного препарата для животных / И. В. Киреев, В. А. Оробец // Аграрный вестник Северного Кавказа. – 2017. – №. 1 (25). – С. 73-75.
6. Любин, Н. А. Функциональное состояние системы антиоксидантной защиты и свободнорадикального окисления у свиней в зависимости от применения различных форм витамина А и бета-каротина / Н. А. Любин, И. И. Стеценко, Е. Н. Любина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – №. 1 (21). – С. 54-59.
7. Любина, Е. Н. Биохимические механизмы взаимосвязи каротиноидов, витамина А и минеральных веществ в антиоксидантной защите организма свиней / Е. Н. Любина, И. Т. Гусева // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – №. 3 (27). – С. 68-72.
8. Овчаренко, А. С. Сравнительный анализ мясной продуктивности пород перепелов и их гибридов / А. С. Овчаренко, Л. В. Харина // Эффективное животноводство. – 2021. – №. 5 (171). – С. 116-117.
9. Путивская, Т. Б. Проект повышения эффективности разведения перепелов / Т. Б. Путивская, В. И. Норовяткин // Региональные агросистемы: экономика и социология. – 2022. – №. 3. – С. 56-62.
10. Фисинин, В. Мировое и отечественное птицеводство: реалии и вызовы будущего / В. Фисинин // Животноводство России. – 2025. – № 1. – С. 6-13.
11. Чагина, Е. А. Метаболические и лечебно-профилактические эффекты каротиноидов / Е. А. Чагина, Е. П. Турмова, В. Д. Перельгина, А. А. Ольшевская // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. – 2024. – №. 12-4 (99). – С. 132-135.
12. Saini, R. K. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities / R. K. Saini, S. H. Nile, S. W. Park // Food Research International. – 2015. – Т. 76. – С. 735-750.

References

1. Boryaev, G. I. Influence of a complex of antioxidant preparations on the productivity of parent flock poultry and the quality of hatching eggs / G. I. Boryaev, E. V. Zdoroveva, Yu. N. Fedorov, Yu. V. Kravchenko // Niva Povolzhya. – 2012. – No. 3. – P. 49-55.

2. Gallyamova, M. Yu. Effect of ionizing radiation on the activity of antioxidant enzymes of the Escherichia coli strain "PL-6" during repeated irradiation / M. Yu. Gallyamova, K. N. Vagin, T. R. Gainutdinov [et al.] // Radiation and risk (Bulletin of the National Radiation and Epidemiological Registry). - 2024. - Vol. 33, No. 1. - P. 68-76.
3. Golovkova, E. E. Sources of antioxidants and their use in raising animals / E. E. Golovkova, D. A. Chuyan, N. R. Kasanova, D. A. Valiullina, R. I. Mikhailova // Veterinary medicine in the 21st century: the role of biotechnology and digital technologies: Proceedings of the III International Scientific and Practical Conference, Vitebsk - Samarkand, January 30, 2025. - Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2025. - P. 223-227.
4. Gusarova, M. L. Systematic monitoring of individual safety indicators of poultry products / M. L. Gusarova, E. S. Baranovich, N. I. Volkova [et al.] // Veterinarian. - 2025. - No. 4. - P. 57-63.
5. Kireev, I. V. Therapeutic and prophylactic efficiency of a new antioxidant drug for animals / I. V. Kireev, V. A. Orobets // Agrarian Bulletin of the North Caucasus. - 2017. - No. 1 (25). - P. 73-75.
6. Lyubin, N. A. Functional state of the antioxidant defense system and free radical oxidation in pigs depending on the use of various forms of vitamin A and beta-carotene / N. A. Lyubin, I. I. Stetsenko, E. N. Lyubina // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2013. - No. 1 (21). - P. 54-59.
7. Lyubina, E. N. Biochemical mechanisms of the relationship between carotenoids, vitamin A and minerals in the antioxidant defense of the pig body / E. N. Lyubina, I. T. Guseva // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2014. - No. 3 (27). - P. 68-72.
8. Ovcharenko, A. S. Comparative analysis of meat productivity of quail breeds and their hybrids / A. S. Ovcharenko, L. V. Kharina // Effective animal husbandry. - 2021. - No. 5 (171). - P. 116-117.
9. Putivskaya, T. B. Project for increasing the efficiency of quail breeding / T. B. Putivskaya, V. I. Novoyatkin // Regional agrosystems: economics and sociology. - 2022. - No. 3. - P. 56-62.
10. Fisinin, V. Global and domestic poultry farming: realities and challenges of the future / V. Fisinin // Animal husbandry of Russia. - 2025. - No. 1. - P. 6-13.
11. Chagina, E. A. Metabolic and therapeutic and prophylactic effects of carotenoids / E. A. Chagina, E. P. Turmova, V. D. Pereleygina, A. A. Olshevskaya // International Journal of Humanities and Natural Sciences. - 2024. - No. 12-4 (99). - P. 132-135.
12. Saini, R. K. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities / R. K. Saini, S. H. Nile, S. W. Park // Food Research International. - 2015. - T. 76. - C. 735-750.

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 24.09.2025;

ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Эмиль Касымович Рахматуллин, доктор ветеринарных наук, *amil59@yandex.ru*

Ильнур Равилевич Кадиков, доктор биологических наук, *cir6@yandex.ru*

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

Екатерина Ивановна Куршакова, кандидат биологических наук, *Keter-89@mail.ru*

Даниль Рустамович Сагдеев, кандидат ветеринарных наук, *sagdeevdaniel@mail.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Эмиль Касымович Рахматуллин.

Аннотация. Исследования острой токсичности на белых мышах показали отсутствие клинических изменений при пероральном введении препарата в дозах до 2000 мг/кг. Средняя смертельная доза для мышей составляет 3924 мг/кг. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, препарат относится к 3 классу опасности. Препарат подавлял антитоксическую функцию печени в дозе 2000 мг/кг (в 10 раз превышающей терапевтическую) через 5 и 24 часа после введения. Введение тиопентала в указанные сроки приводило к достоверному увеличению продолжительности сна у подопытных крыс по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). Снижение дозы препарата до терапевтической (200 мг/кг) не подавляло антитоксическую функцию печени. Введение тиопентала через 1, 3, 5 и 24 часа после введения препарата не приводило к увеличению продолжительности сна у подопытных крыс по сравнению с контрольной группой ($P > 0,05$). При местном применении в терапевтической дозе препарат не влияет на антитоксическую функцию печени. Экспериментальные исследования показали, что комбинированный препарат циперметрина и негувона при местном применении не влияет на биохимические показатели крови крыс и не оказывает токсического действия.

Ключевые слова: пиретроид, циперметрин, негувон, пу-рон, ЛД₅₀, тиопентал

Для цитирования: Рахматуллин Э. К., Кадиков И. Р., Майорова Е. Н., Куршакова Е. И., Сагдеев Д. Р. Исследование потенциальной токсичности комплексного препарата для наружного применения// Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 30 – 36. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_30

STUDY OF THE POTENTIAL TOXICITY OF A COMPLEX PRODUCT FOR EXTERNAL USE

Emil K. Rakhmatullin, Doctor of Veterinary Sciences, *amil59@yandex.ru*

Ilnur R. Kadikov, Doctor of Biological Sciences, *cir6@yandex.ru*

Ekaterina N. Mayorova, Candidate of Biological Sciences, *majorovaen83@mail.ru*

Ekaterina I. Kurshakova, Candidate of Biological Sciences, *Keter-89@mail.ru*

Danil R. Sagdeev, Candidate of Veterinary Sciences, *sagdeevdaniel@mail.ru*

Abstract. Acute toxicity studies in white mice showed no clinical effects following oral administration of the drug at doses up to 2000 mg/kg. The median lethal dose for mice is 3924 mg/kg. According to GOST 12.1.007-76, the drug belongs to hazard class 3. The drug suppressed the liver's antitoxic function at a dose of 2000 mg/kg (10 times the therapeutic dose) 5 and 24 hours after administration. Administration of thiopental at these times resulted in a significant increase in sleep duration in the experimental rats compared to the control group ($P < 0.05$). Reducing the dose to the therapeutic dose (200 mg/kg) did not suppress the liver's antitoxic function. Administration of thiopental 1, 3, 5, and 24 hours after administration did not result in an increase in sleep duration in the experimental rats compared to the control group ($P > 0.05$). When applied topically at a therapeutic dose, the drug does not affect the liver's antitoxic function. Experimental stud-

ies have shown that a combination of cypermethrin and neguvon applied topically in rats does not affect blood biochemistry and has no toxic effect.

Keywords: pyrethroid, cypermethrin, neguvon, pure-on, LD₅₀, thiopental

Введение. Интенсивное использование минеральных удобрений и пестицидов в сельском хозяйстве приводит к ежегодному химическому загрязнению. Это приводит к накоплению нитратов, фосфатов, солей и самих пестицидов в почвах и водоёмах, что приводит к эвтрофикации, сокращению биоразнообразия, нарушению экосистем и негативному воздействию на здоровье человека через продукты питания и воду. В связи с этим правительство принимало нормативные и другие политические меры для минимизации негативного воздействия и обеспечения соответствия стандартам качества окружающей среды [1, 5].

Весьма перспективным решением этой проблемы является использование пестицидов природного происхождения и их аналогов. К таким препаратам относятся перметрин, циперметрин и другие подобные препараты, обладающие как оглушающими, так и репеллентными свойствами. В последнее десятилетие в ветеринарной практике во всем мире в качестве эффективных акарицидов используются препараты на основе синтетических пиретроидов [14]. Современные требования к ветеринарным лекарственным препаратам – высокая эффективность, относительно низкая токсичность для животных и человека, безвредность для окружающей среды [4, 10].

Целью исследования является изучение потенциальной токсичности комплексного препарата с циперметрином и негувоном для определения безопасности его воздействия на продуктивных животных.

Материалы и методы. В работе используется комплексный препарат Pure-on на основе циперметрина и негувон, который наносится путем выливания на спину и холку животных. Препарат содержит циперметрин - 0,6%, негувон - 0,4%, бутилацетат - 25% и бутанол - до 100% [6, 11].

Исследование острой токсичности проведено на 40 белых беспородных мышах массой 18–20 г. В эксперименте использовались клинически здоровые животные, содержащиеся в идентичных условиях. Исследуемый препарат вводили внутрижелудочно в виде водной эмульсии. LD₅₀ и другие показатели рассчитывали методом пробит-анализа, предложенным Литчфилдом и Уилкоксоном, в модификации З. Рота [2, 15]. Все процедуры, связанные с введением фармакологического вещества, проводили в условиях, исключающих бактериальную контаминацию лабораторных животных. Наблюдение за экспериментальными животными осуществляли не менее 14 суток после однократного введения.

Для изучения влияния препарата на монооксигеназную ферментную систему печени использовали тиопенталовый тест [15]. Тиопентал вводили внутрибрюшинно из расчета 40 мг/кг. В эксперименте участвовали 48 двухмесячных крыс-самок массой 120–150 г. Было сформировано восемь групп. Тиопенталовый сон вызывался у крыс через 1, 3, 5 и 24 часа после однократного введения препарата. Животных опытной и контрольной групп разделяли на пары по массе тела и одновременно вводили тиопентал. Препарат наносили на спину и холку опытных животных в дозах 200 и 2000 мг/кг. Контрольным животным на спину и холку наносили 0,3 мл воды, после чего вводили тиопентал по той же схеме, что и в эксперименте. Продолжительность сна белых крыс измеряли с момента принятия ими бокового положения до первых попыток его изменить и выражали в минутах.

Для изучения влияния препарата на биохимические показатели животных были отобраны 30 белых крыс-самок в возрасте от 1,5 до 2 месяцев. Животные были разделены на шесть групп (пять опытных и одна контрольная). Препарат наносили животным опытных групп (I–V) однократно на кожу холки и спины в дозе 200 мг/кг. Кровь для анализа брали через 3,5 часа, 1, 5, 14 и 29 суток после однократного введения. Группа VI служила контролем. Животным контрольной группы на кожу спины и холки наносили по 0,3 мл воды на голову. Схема исследования представлена в таблице 1.

Для исследования влияния препарата на биохимические показатели крови крыс были выбраны следующие показатели: общий белок, глюкоза, мочевина, остаточный азот, а также активность ферментов щелочной фосфатазы, холинэстеразы, АЛТ и АСТ (аланин- и аспартатаминотрансферазы). Для определения общего белка, мочевины, холинэстеразы, щелочной фосфатазы, АЛТ и АСТ использовались наборы реагентов фирмы «Лахема». Глюкозу определяли с помощью набора реагентов «Фотоглюкоза», который измеряет этот показатель глюкозооксидазным методом [8, 9]. Для исследования биохимических параметров использовался прибор НИТАСИ 911.

Таблица 1 – Схема исследования

Группы	Сроки исследования				
	3,5 часа	1	5	14	29
I	+				
II		+			
III			+		
IV				+	
V					+
VI	+	+	+	+	+

Полученные экспериментальные данные были обработаны с использованием вариационной статистики в программе STATISTICA. Были рассчитаны следующие показатели: среднее арифметическое (M), стандартная ошибка (m) и индекс значимости (p). Значимость различий определялась с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. В экспериментах по изучению острой токсичности препарата на белых мышах установлено, что при внутрижелудочном введении доз до 2000 мг/кг клинических изменений не наблюдается. При увеличении дозы до 2340 мг/кг появлялись первые клинические признаки отравления (отказ от еды, жажды и общее угнетение). Гибель животных после введения летальных доз наступала в течение 4–24 часов. После введения токсических доз угнетение развивалось в течение 8–10 минут, и животные засыпали. В дальнейшем наступали паралич дыхания, остановка дыхания и смерть. При остром токсикозе наблюдались кровоизлияния в эпикард и перикард, отек легких, дистрофические изменения печени и почек. Наблюдалось катаральное воспаление слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и кровотечение из паренхиматозных органов. В трахее и бронхах обнаружено большое количество пенистой жидкости, на слизистой оболочке дыхательных путей – точечные кровоизлияния; лёгочная ткань отёчна. У выживших животных клиническое состояние нормализовалось в течение 4–5 суток. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Параметры острой токсичности препарата у мышей

Параметры острой токсичности (мг/кг)				
МПД	ЛД ₁₆	ЛД ₅₀ с доверительными границами	ЛД ₈₄	ЛД ₁₀₀
2700	2988	3924 (3619÷4253,4)	5148	5400

В результате изучения токсических свойств препарата установлено, что средняя смертельная доза для мышей составляет 3924 (3619÷4253,4) мг/кг. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 препарат относится к 3 классу опасности [3, 7]. Выраженные симптомы нарушения функции центральной нервной системы (депрессия, судороги, параличи) после введения токсических доз исследуемого препарата подтверждают нейротропный характер его токсического действия.

Благодаря своей центральной роли в метаболизме химических соединений печень является объектом многочисленных токсикологических исследований. Её основные структурные элементы – гепатоциты – представляют собой сложную многофункциональную систему, синтезирующую плазменные белки, гликоген, холестерин и фосфолипиды, расщепляющую гормоны и детоксицирующую ксенобиотики. Разлагая токсичные вещества, клетки печени становятся мишенью как для самих этих веществ, так и для их ещё более активных метаболитов. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Представленные данные показывают, что введение крысам дозы 2000 мг/кг (в 10 раз превышающей терапевтическую) подавляло антитоксическую функцию печени через 5 и 24 часа после введения. Введение тиопентала в эти сроки достоверно увеличивало продолжительность сна у подопытных крыс по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). Снижение дозы до терапевтической (200 мг/кг) не подавляло антитоксическую функцию печени. Введение тиопентала через 1, 3, 5 и 24 часа после введения не увеличивало продолжительность сна у подопытных крыс по сравнению с контрольной группой ($P > 0,05$).

Таблица 3 – Влияние препарата на продолжительность тиопенталового сна у крыс

Группа	Доза препарата, (мг/кг)	Длительность интервала, через который вводили тиопентал (в часах)			
		1	3	5	24
		Продолжительность сна в мин. (M±m)			
II	2000	23,6±0,56	20,17±0,54	31,5±2,03*	30,17±1,28*
Контроль	-	21,7±1,42	21,7±1,42	21,7±1,42	21,7±1,42
I	200	18,5±0,92	17,83±1,23	16,83±0,79	16,7±0,56
Контроль	-	19,6±1,25	19,6±1,25	19,6±1,25	19,6±1,25

Примечание: * - где $P <0,05$

Точное определение характера воздействия ветеринарного препарата на животных и степени его опасности возможно только на основе комплексного исследования крови, включающего как морфологические, так и биохимические исследования. Последнее позволяет выявить более глубокие, латентные изменения в отдельных системах и органах животных. Без этих исследований сложно оценить возможность широкого практического применения того или иного препарата [15]. После нанесения препарата на спину крыс в терапевтической дозе 200 мг/кг общее состояние животных было удовлетворительным: токсикоза, выпадения шерсти и гибели животных не наблюдалось. Результаты исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Биохимические показатели сыворотки крови крыс после нанесения на кожу препарата

Показатели, (M±m)	Сроки эксперимента (дни)				
	3,5 часа	1	5	14	29
Общий белок, г/л	<u>62,5±3,01</u> 69,37±2,45	<u>58,76±3,57</u> 69,37±2,45	<u>71,87±2,2</u> 69,37±2,45	<u>66,87±2,15</u> 69,37±2,45	<u>69,73±2,3</u> 69,37±2,45
Глюкоза, ммоль/л	<u>2,55±0,17*</u> 1,83±0,13	<u>3,53±0,3*</u> 1,83±0,13	<u>2,91±0,17*</u> 1,83±0,13	<u>1,53±0,14</u> 1,83±0,13	<u>2,19±0,08</u> 1,83±0,13
Холинэстераза, мккат/л	<u>8,61±0,3*</u> 6,16±0,42	<u>8,02±0,04*</u> 6,16±0,42	<u>5,05±0,44</u> 6,16±0,42	<u>4,75±0,78</u> 6,16±0,42	<u>6,53±0,44</u> 6,16±0,42
Щелочная фосфатаза, мккат/л	<u>1,34±0,14</u> 1,25±0,08	<u>1,12±0,09</u> 1,25±0,08	<u>1,05±0,14</u> 1,25±0,08	<u>1,15±0,09</u> 1,25±0,08	<u>1,02±0,14</u> 1,25±0,08
АЛТ, ммоль/л	<u>1,46±0,16</u> 1,52±0,19	<u>1,53±0,13</u> 1,52±0,19	<u>1,5±0,12</u> 1,52±0,19	<u>1,85±0,18</u> 1,52±0,19	<u>1,39±0,11</u> 1,52±0,19
АСТ, ммоль/л	<u>2,9±0,3</u> 2,17±0,25	<u>2,68±0,19</u> 2,17±0,25	<u>2,53±0,33</u> 2,17±0,25	<u>2,33±0,12</u> 2,65±0,14	<u>1,95±0,23</u> 2,17±0,25
Мочевина, ммоль/л	<u>6,76±0,38</u> 6,36±0,5	<u>5,77±0,53</u> 6,36±0,5	<u>4,86±1,13</u> 6,36±0,5	<u>5,63±0,44</u> 6,36±0,5	<u>5,78±0,64</u> 6,36±0,5
Остаточный азот, г/л	<u>0,286±0,005</u> 0,286±0,02	<u>0,263±0,006</u> 0,286±0,02	<u>0,247±0,02</u> 0,286±0,02	<u>0,268±0,01</u> 0,286±0,02	<u>0,273±0,02</u> 0,286±0,02

Примечание: в числителе приведены показатели после введения дозы 200 мг/кг, а в знаменателе контрольная группа; * - $p <0,05$

Анализируя данные, представленные в таблице 4, можно увидеть, что концентрация общего белка, а также активность щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) колебались незначительно в течение 29 дней эксперимента. Уровень холинэстеразы был значительно повышен в начале эксперимента, т.е. в группах животных через 3,5 часа и 1 день после введения препарата. Снижение активности фермента в группах через 5 и 14 дней после введения терапевтической дозы было статистически незначимым.

Повышение уровня глюкозы и холинэстеразы в сыворотке крови у крыс в группах через 3,5 часа, 1 день и 5 дней после введения препарата, по-видимому, связано со стрессом, вызванным забором крови. Стress приводит к выбросу гормонов стресса, таких как кортизол и адреналин, которые влияют на метаболизм глюкозы [12, 13].

Заключение. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, препарат относится к 3 классу опасности. При местном применении в терапевтических дозах препарат не влияет на антитоксическую функцию печени. Комбинированный препарат для наружного применения при местном применении не влияет на биохимические показатели крови крыс и не оказывает токсического действия.

Список источников

1. Анатолий Константинович Лысов. Проблемы применения средств защиты растений и пути снижения их техногенного воздействия на окружающую среду // АгроЭкоИнженерия. 2023. №3 (116). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-primeneniya-sredstv-zashchity-rasteniy-i-puti-snizheniya-ih-tehnogenogo-vozdeystviya-na-okruzhayuschiyu-sredu> (дата обращения: 06.08.2025).
2. Беленький М.Д. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. - Л.: Медгиз, 1963. - С.151.
3. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Химико-фармацевтический журнал. 2003. Т. 37. № 3. С. 32-34.
4. Васильев А. Н., Ниязов Р. Р., Гавришина Е. В., Драницына М. А., Куличев Д. А. Проблемы планирования и проведения доклинических исследований в Российской Федерации // Ремедиум. 2017. №9. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-planirovaniya-i-provedeniya-doklinicheskikh-issledovaniy-v-rossiyskoy-federatsii> (дата обращения: 06.08.2025).
5. Галяутдинова, Г. Г. Токсикологическая оценка сочетанного воздействия дециса, Т-2 токсина и кадмия на организм телят на уровне ПДК / Г. Г. Галяутдинова, В. И. Егоров // Ветеринарная медицина. – 2013. – № 97. – С. 418-419. – EDN STHQVN.
6. Герунова Л.К., Смылова П.Ю. Кожно-резорбтивное действие фипронил- и перметринсодержащих препаратов // Ветеринарный врач. 2017. № 5. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/kozhno-rezorbтивnoe-deystvie-fipronil-i-permetrinsoderzhaschih-preparatov> (дата обращения: 06.08.2025).
7. ГОСТ 12.1.007-76. Межгосударственный стандарт. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Дата введения 01.01.1977.
8. Карпищенко, А. И. Клиническая лабораторная диагностика заболеваний печени и желчевыводящих путей: руководство для врачей / А. И. Карпищенко [и др.] – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 464 с. - ISBN 978-5-9704-5256-1. – URL: https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN978_5970452561.html (дата обращения: 23.04.2021).
9. Кишкун, А. А. Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие / А. А. Кишкун. – М.: ГЭОТАРМедиа, 2019. - 1000 с. – ISBN 978-5-9704-4830-4. – Текст: электронный // ЭБС "Консультант студента": [сайт]. – URL: 9 https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN978_5970448304.html (дата обращения: 27.04.2021). – Режим доступа: по подписке.
10. Мишина Наиля Наримановна, Ямалова Гузалия Рустамовна, Алеев Дамир Вазыхович, Халикова Кадрия Фагимовна, Маланьев Андрей Валериянович, Егоров Владислав Иванович, Хафизова Алсу Магъфуровна. Гистологические изменения внутренних органов крыс при экспериментальном отравлении препаратом на основе глифосата и лечении сорбентом на основе β-глюканы // Ветеринарный врач. 2025. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/gistologicheskie-izmeneniya-vnutrennih-organov-krays-pri-eksperimentalnom-otravlenii-preparatom-na-osnove-glifosata-i-lechenii> (дата обращения: 07.08.2025).
11. Набиев, Ф. Г. Современные ветеринарные лекарственные препараты: учебное пособие / Ф. Г. Набиев, Р. Н. Ахмадеев. - 2-е изд., перераб. - Санкт-Петербург: Лань, 2021. С. 729-730. - ISBN 978-5-8114-1100-9. - Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. - URL: <https://e.lanbook.com/book/169472> (дата обращения: 26.01.2022). - Режим доступа: для авториз. пользователей.
12. Оценка влияния метаболического синдрома, андрогенного дефицита и стресса на развитие хронической болезни почек и печени у самцов белых крыс / Е. А. Греков, В. И. Кирпатовский, С. А. Голованов и др. // Экспериментальная и клиническая урология. - 2012. - № 4. - С. 8-13.
13. Скрипкина Дарья Викторовна, Абрамова Анастасия Юрьевна, Шойбонов Батожаб Батожаргалович, Алексеева Ирина Владимировна, Никенина Екатерина Валерьевна, Перцов Сергей Сергеевич

Уровень кортекостерона и глюкозы в крови крыс в условиях хронического непредсказуемого стресса разной длительности // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2024. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/uroven-kortekosterona-i-glyukozy-v-krovi-krys-v-usloviyah-hronicheskogo-nepredskazuemogo-stressa-raznoy-dlitelnosti> (дата обращения: 12.08.2025).

14. Сухорученко Г. И., Буркова Л. А., Иванова Г. П., Васильева Т. И., Долженко О. В., Иванов С. Г., Долженко В. И. Формирование ассортимента химических средств защиты растений от вредителей в XX веке // Вестник защиты растений. 2020. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/formirovaniye-assortimenta-himicheskikh-sredstv-zashchity-rasteniy-ot-vrediteley-v-xx-veke> (дата обращения: 06.08.2025).
15. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному и доклиническому изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. 832 с.

References

1. Anatoly Konstantinovich Lysov. Problems of application of plant protection means and ways to reduce their technogenic impact on the environment // AgroEcoEngineering. 2023. No. 3 (116). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-primeneniya-sredstv-zashchity-rasteniy-i-puti-snizheniya-ih-tehnogenного-vozdeystviya-na-okruzhayushchuyu-sredu> (date of access: 06.08.2025).
2. Belenky M.D. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. - L.: Medgiz, 1963. - P. 151.
3. Berezovskaya I.V. Classification of chemical substances by parameters of acute toxicity for parenteral routes of administration // Chemical-pharmaceutical journal. 2003. Vol. 37. No. 3. Pp. 32-34.
4. Vasiliev A.N., Niyazov R.R., Gavrilshina E.V., Dranitsyna M.A., Kulichev D.A. Problems of planning and conducting preclinical studies in the Russian Federation // Remedium. 2017. No. 9. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-planirovaniya-i-provedeniya-doklinicheskikh-issledovaniy-v-rossiyskoy-federatsii> (date of access: 06.08.2025).
5. Galyautdinova, G. G. Toxicological assessment of the combined effects of decis, T-2 toxin and cadmium on the body of calves at the MAC level / G. G. Galyautdinova, V. I. Egorov // Veterinary medicine. - 2013. - No. 97. - P. 418-419. - EDN STHQVN.
6. Gerunova L.K., Smyslova P.Yu. Skin-resorptive effect of fipronil- and permethrin-containing drugs // Veterinary doctor. 2017. No. 5. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/kozhno-rezorbtivnoe-deystvie-fipronil-i-permetrinsoderzhaschih-preparatov> (date of access: 06.08.2025).
7. GOST 12.1.007-76. Interstate standard. Occupational safety standards system. Harmful substances. Classification and general safety requirements. Date of introduction 01.01.1977.
8. Karpishchenko, A. I. Clinical laboratory diagnostics of liver and biliary tract diseases: a guide for doctors / A. I. Karpishchenko [et al.] - M.: GEOTAR-Media, 2020. - 464 p. - ISBN 978-5-9704-5256-1. - URL: https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN978_5970452561.html (date of access: 04/23/2021).
9. Kishkun, A. A. Clinical laboratory diagnostics: a tutorial / A. A. Kishkun. - M.: GEOTARMedia, 2019. -- 1000 p. - ISBN 978-5-9704-4830-4. - Text: electronic // Electronic Library System "Student Consultant": [site]. - URL: 9 https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN978_5970448304.html (date accessed: 04/27/2021). - Access mode: by subscription.
10. Mishina Nailya Narimanovna, Yamalova Guzaliya Rustamovna, Aleev Damir Vazykhovich, Khalikova Kadriya Fagimovna, Malanov Andrey Valerianovich, Egorov Vladislav Ivanovich, Khafizova Alsu Magfurovna. Histological changes in the internal organs of rats during experimental poisoning with a drug based on glyphosate and treatment with sorbent based on b-glucan // Veterinarian. 2025. No. 2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/gistologicheskie-izmeneniya-vnutrennih-organov-krys-pri-eksperimentalnom-otravlenii-preparatom-na-osnove-glifosata-i-lechenii> (date of access: 07.08.2025).
11. Nabiev, F. G. Modern veterinary drugs: a textbook / F. G. Nabiev, R. N. Akhmadeev. - 2nd ed., revised. - St. Petersburg: Lan, 2021. Pp. 729-730. - ISBN 978-5-8114-1100-9. - Text: electronic // Lan: electronic library system. - URL: <https://e.lanbook.com/book/169472> (date of access: 26.01.2022). - Access mode: for authorized users.
12. Evaluation of the influence of metabolic syndrome, androgen deficiency and stress on the development of chronic kidney and liver disease in male white rats / E. A. Grekov, V. I. Kirpatovsky, S. A. Golovanov, et al. // Experimental and Clinical Urology. - 2012. - No. 4. - P. 8-13.
13. Skripkina Daria Viktorovna, Abramova Anastasia Yuryevna, Shoibonov Batozhab Batozhargalovich, Alekseeva Irina Vladimirovna, Nikenina Ekaterina Valerievna, Pertsov Sergey Sergeevich The level of corticosterone and glucose in the blood of rats under conditions of chronic unpredictable stress of differ-

ent duration // Russ. med.-biol. vestn. im. acad. I.P. Pavlov. 2024. No. 2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/uroven-kortekosterona-i-glyukozy-v-krovi-krys-v-usloviyah-hronicheskogo-nepredskazuemogo-stressa-raznoy-dlitelnosti> (date of access: 12.08.2025).

14. Sukhoruchenko G. I., Burkova L. A., Ivanova G. P., Vasilyeva T. I., Dolzhenko O. V., Ivanov S. G., Dolzhenko V. I. Formation of the assortment of chemical means of plant protection from pests in the xx century // Bulletin of Plant Protection. 2020. No. 1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/formirovaniye-assortimenta-himicheskikh-sredstv-zashchity-rasteniy-ot-vrediteley-v-xx-veke> (date of access: 06.08.2025).

15. Khabriev R.U. Guide to experimental and preclinical study of new pharmacological substances. 2nd ed., revised and enlarged. Moscow: OJSC "Izdatelstvo" Medicine ", 2005. 832 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 01.10.2025;

© Рахматуллин Э. К., Кадиков И. Р., Майорова Е.Н., Куршакова Е.И., Сагдеев Д. Р. 2025

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 37 – 41
 The Veterinarian. 2025; (5): 37 – 41

Научная статья
 УДК 619:615.91:636.084.5:614.3
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_37

ФЕРМЕНТНЫЙ СТАТУС БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФУЗАРИОТОКСИНОВ И АФЛАТОКСИНА B₁

Евгения Юрьевна Тарасова, кандидат биологических наук, *evgenechka1885@mail.ru*
 Лилия Евгеньевна Матросова, доктор биологических наук, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*
 Ольга Константиновна Ермолова, кандидат биологических наук, *ermolao@list.ru*
 Светлана Анатольевна Танасева, кандидат биологических наук, *s-tanaseva@mail.ru*
 Глеб Сергеевич Кашеваров, кандидат биологических наук, *kaschewarow@mail.ru*
 Элина Илгизовна Идрисова, *elina.idrisova82@mail.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Евгения Юрьевна Тарасова

Аннотация. Загрязнение кормов микотоксинами и последствия микотоксикозов для продуктивных животных подчёркивают необходимость разработки и внедрения эффективных профилактических средств. Целью настоящих исследований являлась оценка ферментного статуса белых крыс при комбинированном воздействии фузариотоксинов (Т-2 токсин и зеараленон) и афлатоксина B₁. Опыты проведены на 60 белых крысах обоего пола, разделенных по принципу аналогов на 6 групп. Первая группа служила биологическим контролем. Животные второй, третьей и пятой группы совместно с комбикормом в течение 21 суток получали Т-2 токсин – 5 мг/кг, афлатоксин B₁ – 2,5 мг/кг, зеараленон – 2,0 мг/кг корма. Использовали 2 рецептуры: профилактическое средство №1 (β-глюканы, силимарин, витамин Е, витамин С и левамизол; профилактическое средство №2 (бентонит, янтарная кислота, метилурацил, витамин А, бифидобактерии и лактобактерии). Исследуемые средства вводили в комбикорм третьей, четвертой, пятой и шестой группы. Четвертая и шестая группа служили контролем безвредности профилактических средств. Уровень в сыворотке крови аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, креатинкиназы и гамма-глутамилтрансферазы определяли с использованием биохимического анализатора «Microlab-300». Проведенные исследования показали, что длительное воздействие исследуемых фузариотоксинов (Т-2 токсин и зеараленон) и афлатоксина B₁ вызывает изменение ферментного статуса белых крыс. Комбинация Т-2 токсина, зеараленона и афлатоксина B₁ значительно повышает активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, креатинкиназы. Предлагаемые профилактические комплексы смягчают неблагоприятное воздействие микотоксинов, ослабляя токсическое влияние микотоксинов на биохимические показатели крови.

Ключевые слова: фузариотоксины, афлатоксин B₁, белые крысы, ферменты, профилактика

Для цитирования: Тарасова Е.Ю., Матросова Л.Е., Ермолова О.К., Танасева С.А., Кашеваров Г.С., Идрисова Э.И. Ферментный статус белых крыс при воздействии фузариотоксинов и афлатоксина B₁ // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 37 – 41. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_37

ENZYME STATUS OF WHITE RATS EXPOSED TO FUSARIOTOXINS AND AFLATOXIN B1

Evgeniya Yu. Tarasova, Candidate of Biological Sciences, *evgenechka1885@mail.ru*
 Lilia E. Matrosova, Doctor of Biological Sciences, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*
 Olga K. Ermolova, Candidate of Biological Sciences, *ermolao@list.ru*
 Svetlana A. Tanaseva, Candidate of Biological Sciences, *s-tanaseva@mail.ru*
 Gleb S. Kashevarov, Candidate of Biological Sciences, *kaschewarow@mail.ru*
 Elina I. Idrisova, *elina.idrisova82@mail.ru*

Corresponding author: Evgeniya Yurievna Tarasova.

Abstract. Mycotoxin contamination of feed and the effects of mycotoxicosis on productive animals emphasize the need to develop and implement effective preventive measures. The purpose of these studies was to evaluate the enzyme status of white rats under the combined effects of fusariotoxins (T-2 toxin and zearalenone) and aflatoxin B1. The experiments were conducted on 60 white rats of both sexes, divided into 6 groups according to the principle of analogues. The first group served as a biological control. Animals of the second, third and fifth groups received T-2 toxin – 5 mg/kg, aflatoxin B1 – 2.5 mg/kg, zearalenone – 2.0 mg/kg of feed together with mixed feed for 21 days. 2 formulations were used: preventive agent No. 1 (beta-glucans, silymarin, vitamin E, vitamin C and levamisole; preventive agent No. 2 (bentonite, succinic acid, methyluracil, vitamin A, bifidobacteria and lactobacilli). The studied products were introduced into compound feed of the third, fourth, fifth and sixth groups. The fourth and sixth groups served as a control of the harmlessness of preventive drugs. Serum levels of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, creatine kinase, and gamma-glutamyltransferase were determined using a Microlab-300 biochemical analyzer. Studies have shown that long-term exposure to the studied fusariotoxins (T-2 toxin and zearalenone) and aflatoxin B1 causes a change in the enzyme status of white rats. The combination of T-2 toxin, zearalenone and aflatoxin B1 significantly increases the activity of aminotransferases, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase, creatine kinase. The proposed preventive complexes mitigate the adverse effects of mycotoxins by reducing the toxic effect of mycotoxins on blood biochemical parameters.

Keywords: fusariotoxins, aflatoxin B1, white rats, enzymes, prevention

Введение. Микотоксины – вторичные метаболиты микроскопических грибов, проявляющие высокую токсичность. Наибольшую опасность для продуктивных животных представляют метаболиты грибов рода *Fusarium* и *Aspergillus*, продуцирующие при определенных условиях фузариотоксины (T-2 токсин, зеараленон, дезоксиниваленол, фумонизины и др.) и афлатоксин B₁ соответственно.

Наиболее токсичным представителем фузариотоксинов является Т-2 токсин, оказывающий широкий спектр токсического воздействия на различные виды, вызывающий снижение продуктивности, диарею и анемию у сельскохозяйственных животных. После попадания в организм с контаминированным кормом Т-2 токсин проникает в кровь и оказывает сильное токсическое воздействие на многие органы, вызывая гепатотоксичность иммунотоксичность, нейротоксичность и репродуктивную токсичность [1-4]. Зеараленон – нестериоидный эстрогенный фузариотоксин, вызывающий нарушения метаболизма репродуктивных гормонов у людей и животных, структурные и морфологические изменения в репродуктивных органах, апоптоз репродуктивных клеток, снижение качества спермы и нарушение репродуктивной функции у потомства [5-6].

Афлатоксины – микотоксины, вырабатываемые грибами рода *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* и *Aspergillus nomius*). Наиболее опасным типом афлатоксинов является афлатоксин B₁, наиболее часто встречающийся во влажных и жарких регионах. Афлатоксин B₁ обладает различными биологическими свойствами, включая острую токсичность, генотоксичность, иммунотоксичность и канцерогенность [7]. Загрязнение кормов микотоксинами и последствия микотоксикозов для продуктивных животных подчёркивают необходимость разработки и внедрения эффективных профилактических средств [8-11].

Целью настоящих исследований являлась оценка ферментного статуса белых крыс при комбинированном воздействии фузариотоксинов (T-2 токсин и зеараленон) и афлатоксина B₁.

Материалы и методы. Работа выполнена на базе ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Объектом исследования являлись самцы и самки белых крыс. В каждой группе было по 10 животных обоего пола. Животные содержались в помещении питомника в пластиковых клетках на подстилке (опилки деревьев нехвойных пород, предварительно стерилизованные). Белые крысы находились в контролируемых условиях окружающей среды при свободном доступе к питьевой воде. Для кормления использовали полнорационный комбикорм для мелких лабораторных грызунов. Схема эксперимента представлена в таблице 1.

Продолжительность эксперимента составила 21 сутки, затем крыс выводили из опыта путем декапитации под эфирным наркозом. Уровень в сыворотке крови аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинкиназы (КК) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) определяли с использованием биохимического анализатора «Microlab-300».

Таблица 1 – Схема эксперимента

Группа	Схема
1	Биологический контроль (полнорационный комбикорм, не содержащий микотоксины)
2	Токсический контроль (полнорационный комбикорм с добавлением микотоксинов: Т-2 токсина – 5 мг/кг, афлатоксина В ₁ – 2,5 мг/кг, зеараленона – 2,0 мг/кг корма)
3	Полнорационный комбикорм с добавлением микотоксинов и профилактического средства №1 на основе β-глюканов, силимарина, витамина Е, витамина С и левамизола
4	Полнорационный комбикорм, не содержащий микотоксины с добавлением профилактического средства №1
5	Полнорационный комбикорм с добавлением микотоксинов и профилактического средства №2 на основе бентонита, янтарной кислоты, метилурацила, витамина А, бифидобактерии и лактобактерии
6	Полнорационный комбикорм, не содержащий микотоксины с добавлением профилактического средства №2

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере в программах Statistica 6.0 и MS Excel. Попарное сравнение результатов разных групп осуществляли с использованием теста Манна-Уитни с коррекцией уровня значимости (р-критерия) по методу Бонферрони.

Результаты исследований и их обсуждение. Печень является основным местом метаболизма ксенобиотиков. Многочисленные исследования продемонстрировали, что воздействие микотоксинов приводит к нарушению функции печени и повышению уровня печеночных ферментов в сыворотке крови.

Рисунок 1 – Активность ферментов (АЛТ, АСТ, ЩФ и КК) при смешанном микотоксикозе и использовании профилактических средств

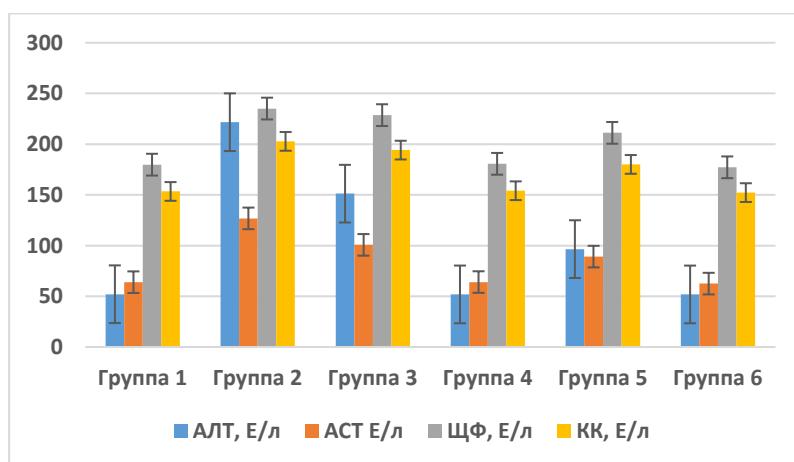
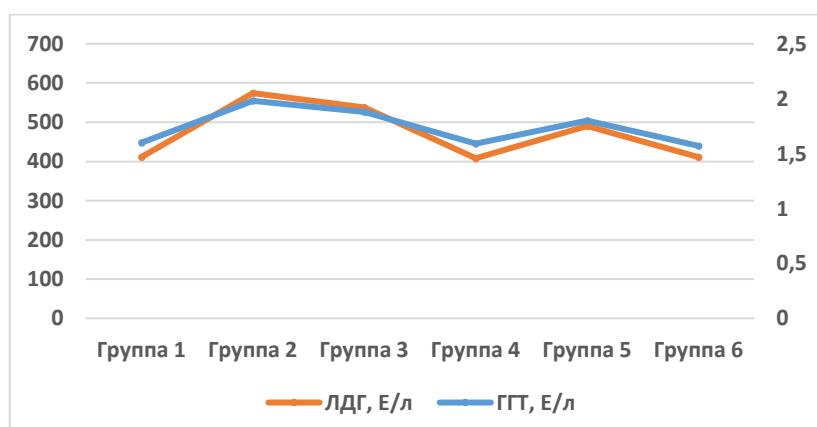


Рисунок 2 – Активность ферментов (ЛДГ и ГГТ) при смешанном микотоксикозе и использовании профилактических средств



В группе токсического контроля в сыворотке крови наблюдалось достоверное повышение ($p < 0,001$) уровня АСТ (1,98 раза), АЛТ (4,26 раза) и ЩФ (30,76 %), что связано с разрушением структурной целостности гепатоцитов. Использование профилактических средств содействовало снижению уровня исследуемых ферментов. Так, в третьей группе уровень АЛТ, АСТ и щелочной фосфатазы был выше, чем у биологического контроля в 2,9 раза ($p < 0,001$), 63,0 % ($p < 0,001$) и 27,15 % ($p < 0,001$). У белых крыс пятой группы активность АЛТ, АСТ и ЩФ была выше, чем у биологического контроля на 85,0 % ($p < 0,001$), 39,47 % ($p < 0,01$) и 17,4 % ($p < 0,05$).

О поражении печени при воздействии микотоксинов свидетельствовало также возрастание активности в сыворотке ЛДГ. У белых крыс второй, третьей и пятой групп активность ЛДГ была выше, чем в биологическом контроле на 39,81 % ($p < 0,001$), 31,0 % ($p < 0,001$) и 19,3 % ($p < 0,05$). Возействие фузариотоксинов и афлатоксина В1 также приводило к повышению содержания в сыворотке крови креатинкиназы и гамма-глутамилтрансферазы. Во второй, третьей и пятой группе активность креатинкиназы была выше, чем у животных группы биологического контроля на 32,18 % ($p < 0,001$), 26,5 % ($p < 0,001$) и 17,4 % ($p < 0,05$). У белых крыс второй, третьей и пятой группы активность ГГТ была выше на 23,75 % ($p < 0,01$), 17,5 % ($p < 0,05$) и 12,7 % соответственно.

Заключение. Проведенные исследования показали, что длительное воздействие исследуемых фузариотоксинов (Т-2 токсин и зеараленон) и афлатоксина В1 вызывает изменение ферментного статуса белых крыс. Комбинация Т-2 токсина, зеараленона и афлатоксина В1 значительно повышает активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, креатинкиназы. Предлагаемые профилактические комплексы смягчают неблагоприятное воздействие микотоксинов, ослабляя токсическое влияние на биохимические показатели крови.

Список источников

1. Поиск эффективных адсорбентов Т-2 токсина / Е. Ю. Тарасова, Э. И. Семенов, А. Р. Валиев, Л. Е. Матросова // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2019. – Т. 5, № 3(19). – С. 322-329.
2. Воздействие микотоксина Т-2 на окислительное повреждение головного мозга на фоне введения антиоксиданта / Ф. Р. Вафин, Э. И. Семенов, А. Ф. Хасиятуллин [и др.] // Проблемы медицинской микологии. – 2024. – Т. 26, № 2. – С. 95.
3. Хасиятуллин, А. Ф. Сравнительная оценка адсорбции Т-2 токсина хитинглюканом и минералами / А. Ф. Хасиятуллин, Ф. Р. Вафин // Материалы Международной научной конференции «Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК» – Казань, 2024. – С. 332-334.
4. Содержание Т-2 и НТ-2 токсинов, активность ферментов в кишечнике и гематологический статус цыплят-бройлеров (*gallus gallus* L.) при экспериментальном Т-2 токсикозе / В.Г. Вертипрахов, А.А. Грозина, Н.Н. Гогина [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56. – № 4. – С. 682-694.
5. Влияние различных концентраций фузариотоксинов на жизнеспособность клеток линии MDBK / А. И. Самсонов, Н. Н. Мишина, И. А. Нестерова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 4. – С. 50-56. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_50. – EDN YADIZK.
6. Progress of Safety of Zearalenone: A Review / Han X., Huangfu B., Xu T. [et al.] // Toxins (Basel). – 2022. - 14(6): 386.
7. Грибы рода *Aspergillus* - возбудители болезней животных и птиц / Р. М. Потехина, Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова [и др.]. – Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2020. – 121 с.
8. Stimulation of Rumen Microflora in Cattle by Using Probiotic Concentrate / S. Yu. Smolentsev, E. N. Poltaev, L. E. Matrosova [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – Vol. 9, No. 2. – P. 948-950.
9. Оценка экономической эффективности применения комплексного адаптогенного средства для профилактики микотоксикоза цыплят-бройлеров / К. В. Юсупова, Н. Н. Мишина, Я. Б. Стрельцова, Д. Р. Сагдеев // Ветеринарный врач. – 2025. – № 3. – С. 51-59.
10. Применение энтеросорбентов в животноводстве / К. Х. Папуниди, М. Я. Тремасов, А. А. Иванов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2010. – № 5. – С. 20-22.
11. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса цыплят-бройлеров при использовании в кормах четырехкомпонентного сорбента на фоне микотоксикоза / Н. Н. Мишина, Э. И. Семенов, А. В. Маланиев [и др.] // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2023. – № 2(46). – С. 174-179.

References

1. Tarasova E. Yu., Semenov E. I., Valiev A. R., Matrosova L. E. Search for effective adsorbents of T-2 toxin // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic sciences. – 2019. – Vol. 5, No. 3(19). – pp. 322-329.
2. The effect of mycotoxin T-2 on oxidative brain damage against the background of antioxidant administration / F. R. Vafin, E. I. Semenov, A. F. Khasiyatullin [et al.] // Problems of medical mycology. – 2024. – Vol. 26, No. 2. – P. 95.
3. Khasiyatullin, A. F. Comparative assessment of the adsorption of T-2 toxin by chitoglucan and minerals / A. F. Khasiyatullin, F. R. Vafin // Proceedings of the International Scientific Conference "Youth Developments and Innovations in Solving Priority Tasks of the AIC" - Kazan, 2024. - P. 332-334.
4. Content of T-2 and HT-2 toxins, enzyme activity in the intestine and hematological status of broiler chickens (*gallus gallus* L.) in experimental T-2 toxicosis / V.G. Vertiprakhov, A.A. Gromina, N.N. Gogina [et al.] // Agricultural Biology. – 2021.
5. The effect of various concentrations of fusariotoxins on the viability of MDBK cells / A. I. Samsonov, N. N. Mishina, I. A. Nesterova [et al.] // The Veterinarian. – 2025. – No. 4. – pp. 50-56. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_50.
6. Progress of Safety of Zearalenone: A Review / Han X., Huangfu B., Xu T. [et al.] // Toxins (Basel). – 2022. - 14(6): 386.
7. Fungi of the genus Aspergillus - pathogens of animal and bird diseases / R. M. Potekhina, E. Y. Tarasova, L. E. Matrosova [et al.]. – Kazan : Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 2020. - 121 p.
8. Stimulation of Rumen Microflora in Cattle by Using Probiotic Concentrate / S. Yu. Smolentsev, E. N. Poltaev, L. E. Matrosova [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – Vol. 9, No. 2. – P. 948-950.
9. K. V. Yusupova, N. N. Mishina, Ya. B. Streletsova, D. R. Sagdeev Assessment of the economic effectiveness of the use of a complex adaptogenic agent for the prevention of mycotoxicosis of broiler chickens // The Veterinarian. – 2025. – No. 3. – pp. 51-59.
10. Use of enterosorbents in animal husbandry / K. Kh. Papunidi, M. Ya. Tremasov, A. A. Ivanov [et al.] // The Veterinarian. - 2010. - No. 5. - P. 20-22.
11. Veterinary and sanitary examination of broiler chicken meat when using a four-component sorbent in feed against the background of mycotoxicosis / N. N. Mishina, E. I. Semenov, A. V. Malaniev [et al.] // Russian Journal «Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology». - 2023. - No. 2 (46). - P. 174-179.

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 22.09.2025;

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 42 – 46
 The Veterinarian. 2025; (5): 42 – 46

Научная статья
 УДК 619:615.9:639
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_42

ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ СОРБЕНТОВ В ОТНОШЕНИИ ГЛИФОСАТА *IN VITRO*

Владислав Иванович Егоров, кандидат биологических наук, *vladislav.e@inbox.ru*
 Константин Евгеньевич Буркин, кандидат технических наук, *konstantinburkin@yandex.ru*
 Дамир Вазыхович Алеев, кандидат биологических наук, *aleev-damir@bk.ru*
 Кадрия Фагимовна Халикова, кандидат ветеринарных наук, *k.khalikova@mail.ru*
 Гузалия Рустамовна Ямалова, *iamalova85@mail.ru*
 Андрей Валериянович Маланьев, кандидат биологических наук, *malanev_andrei@mail.ru*
 Гульнара Габитовна Галяутдинова, кандидат биологических наук, *galyautdinovaggg@gmail.com*

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку: Владислав Иванович Егоров.

Аннотация. Современные исследования последних десятилетий направлены на разработку сорбентов, которые обладают высокой специфичностью к определённым токсичным веществам и могут эффективно действовать по отношению к различным экотоксикантам. Целью работы являлось изучение сорбционных свойств различных сорбентов в отношении глифосата методом *in vitro* и выявление наиболее эффективных. Исследование сорбционных свойств различных сорбентов проводили в трех повторностях. Адсорбцию оценивали по двухфазной методике. На первом этапе имитировали условия желудка, связывали пестицид и сорбент. Для этого инкубировали пестицид и сорбенты в физиологическом растворе при pH-2 и температуре 37°C в течение 120 минут. На втором этапе имитировали условия кишечника. Для этого образованный комплекс «сорбент+пестицид» помещали в среду при pH-8 и температуре 37°C на 30 минут, где происходило высвобождение (десорбция) пестицида. Об эффективности сорбции судили после вычисления истинной сорбции, которую оценивали, как отношение разницы между адсорбированным и десорбированным количеством пестицида к внесенному, выраженное в процентах. Содержание глифосата определяли методом ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием с дериватизацией ацетонитрильным раствором FMOC-Cl на хроматографе Agilent Infinity 1100. На основании проведенных экспериментов установлено, что среди всех происследованных сорбентов наилучшую сорбционную активность в условиях *in vitro* в отношении глифосата показал образец детонационного наноалмаза № 1 – 79,4 %. Сорбционная активность образца детонационного наноалмаза № 2 была ниже, за счет более высокой десорбции глифосата при моделировании условий кишечника *in vitro* (pH-8), и составила 53,9 %. Остальные сорбенты показали более низкую сорбционную активность в отношении глифосата методом *in vitro*.

Ключевые слова: пестициды, глифосат, сорбенты, диатомит, глюкан, детонационный наноалмаз, алмазная шихта

Для цитирования: Егоров В.И., Буркин К.Е., Алеев Д.В., Халикова К.Ф., Ямалова Г.Р., Маланьев А.В., Галяутдинова Г.Г. Изучение сорбционных свойств различных сорбентов в отношении глифосата *in vitro* // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 42 – 46. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_42

STUDY OF SORPTION PROPERTIES OF VARIOUS SORBENTS IN RELATION TO GLYPHOSATE *IN VITRO*

Vladislav I. Egorov, candidate of biological sciences, *vladislav.e@inbox.ru*
 Konstantin E. Burkin, candidate of technical sciences, *konstantinburkin@yandex.ru*
 Damir V. Aleyev, candidate of biological sciences, *aleev-damir@bk.ru*
 Kadriya F. Khalikova, candidate of veterinary sciences, *k.khalikova@mail.ru*

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

Andrei V. Malanov, candidate of biological sciences, *malanev_andrei@mail.ru*

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

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

Corresponding author: Vladislav Ivanovich Egorov.

Abstract. Modern research in recent decades has been aimed at developing sorbents that are highly specific to certain toxic substances and can effectively act against various ecotoxins. The aim of the work is to study the sorption properties of various sorbents in relation to glyphosate using the in vitro method and to identify the most effective ones. The study of the sorption properties of various sorbents was carried out in three replicates. Adsorption was assessed using a two-phase technique. At the first stage, stomach conditions were simulated, and the pesticide and sorbent were bound. For this purpose, the pesticide and sorbents were incubated in a physiological solution at pH 2 and a temperature of 37°C for 120 minutes. At the second stage, intestinal conditions were simulated. For this purpose, the formed "sorbent + pesticide" complex was placed in a medium at pH 8 and a temperature of 37°C for 30 minutes, where the release (desorption) of the pesticide occurred. The efficiency of sorption was judged after calculating the true sorption, which was estimated as the ratio of the difference between the adsorbed and desorbed amount of pesticide to the applied amount, expressed as a percentage. The glyphosate content was determined by HPLC with fluorescence detection with derivatization with an acetonitrile solution of FMOC-Cl on an Agilent Infinity 1100 chromatograph. Based on the experiments, it was found that among all the studied sorbents, the best sorption activity under in vitro conditions with respect to glyphosate was shown by detonation nanodiamond sample No. 1 - 79.4%. The sorption activity of detonation nanodiamond sample No. 2 was lower, due to higher desorption of glyphosate when simulating intestinal conditions in vitro (pH-8), and amounted to 53.9%. The remaining sorbents showed lower sorption activity for glyphosate using the in vitro method.

Keywords: pesticides, glyphosate, sorbents, diatomite, glucan, detonation nanodiamond, diamond charge

Введение. Пестициды, призванные защищать сельскохозяйственные культуры от вредителей, парадоксальным образом сами стали источником серьезной угрозы для здоровья человека и окружающей среды. Их широкое использование в сельском хозяйстве привело к глобальному загрязнению почвы, воды и воздуха, оказывая негативное воздействие на экосистемы и подвергая опасности как сельскохозяйственных работников, так и потребителей продуктов питания. Кроме того, пестициды убивают не только вредителей, но и полезных насекомых, таких как пчелы, которые играют важную роль в опылении растений. Это может привести к снижению урожайности сельскохозяйственных культур и нарушению экологического баланса в экосистемах [1, 2].

Широко применяемый с 1974 года, глифосат является системным гербицидом, эффективным против сорняков в различных сферах, от сельского хозяйства до личных участков. Его действие основано на блокировании шикиматного пути – жизненно важного для растений механизма фотосинтеза, отвечающего за синтез аминокислот. Именно это нарушение делает глифосат столь действенным в борьбе с нежелательной растительностью. Существует много споров о безопасности глифосата. Некоторые исследования связывают его с потенциальными рисками для здоровья человека и окружающей среды, включая канцерогенность. В 2015 году Международное агентство по изучению рака (IARC), входящее в состав Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), классифицировало глифосат как «возможно канцерогенный для человека» (группа 2А). Новые научные данные показывают, что вероятный вред здоровью человека может начаться при сверхнизких уровнях глифосата, например, 0,1 частей на миллиард (1 ppb = 1 мкг/кг), включая нарушение эндокринной системы, повреждение печени и почек, а также нарушение микробиома кишечника. Кроме того, глифосат представляет серьезную угрозу для биоразнообразия и экологической устойчивости. Его использование приводит к сокращению популяций сорняков, которые служат источником пищи и укрытием для многих видов насекомых и птиц. Это, в свою очередь, может нарушить пищевые цепи и привести к дисбалансу в экосистемах [3, 4].

Современные исследования последних десятилетий направлены на создание сорбентов, отличающихся как высокой избирательностью к определенным токсикантам, так и широким спектром действия в отношении различных экотоксикантов [5, 6]. Сорбенты – вещества, способные связывать токсины в желудочно-кишечном тракте и препятствовать их всасыванию в кровь. Эффективность

сорбентов определяется рядом факторов, включая природу токсина, время, прошедшее с момента отравления, вид и состояние животного, а также характеристики используемого сорбента [7].

Цель работы – изучение сорбционных свойств различных сорбентов в отношении глифосата методом *in vitro* и выявление наиболее эффективных.

Материалы и методы. Исследование сорбционных свойств различных сорбентов проводили в трех повторностях. Контрольную пробу исследовали только с глифосатом, без внесения сорбентов. Адсорбцию оценивали по двухфазной методике, описанную Крюковым В.С. (1992) [8] и модифицированную Мишиной Н.Н. и Семеновым Э.И. (2008) [9]. На первом этапе связывали пестицид и сорбент. Для этого инкубировали 50 мкг пестицида и сорбенты в соотношении 1:1000 в физиологическом растворе (5 см³) при pH-2 (кислая среда) и температуре 37°C (имитация условий желудка) в течение 120 минут. На втором этапе имитировали условия кишечника. Для этого образованный комплекс «сорбент+пестицид» помещали в среду при pH-8 (щелочная среда), и температуре 37°C на 30 минут, где происходило высвобождение (десорбция) пестицида. Об эффективности сорбции судили после вычисления истинной сорбции, которую оценивали, как отношение разницы между адсорбированным и десорбированным количеством пестицида к внесенному, выраженное в процентах. Содержание глифосата определяли методом ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием с дериватизацией ацетонитрильным раствором FMOC-Cl на хроматографе Agilent Infinity 1100, состоящем из градиентного насоса высокого давления, автоматического дозирующего устройства, термостата, спектрометрического детектора и колонки хроматографической с привитой фенилгексилсилильной фазой Luna Phenyl-Hexyl (250 мм × 4,6 мм, 5 мкм). Полученные экспериментальные данные обрабатывали общепринятым методом вариационной статистики по Стьюденту с использованием программ Excel. Схема эксперимента по изучению сорбционных свойств различных сорбентов в отношении глифосата представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Схема эксперимента

№ п.п.	Модель исследования
1	Глифосат
2	Глифосат + Диатомит № 1
3	Глифосат + Диатомит № 2
4	Глифосат + Растительный β-глюкан
5	Глифосат + Образец детонационного наноалмаза № 1
6	Глифосат + Образец детонационного наноалмаза № 2
7	Глифосат + Образец алмазной шихты № 1
8	Глифосат + Образец алмазной шихты № 2

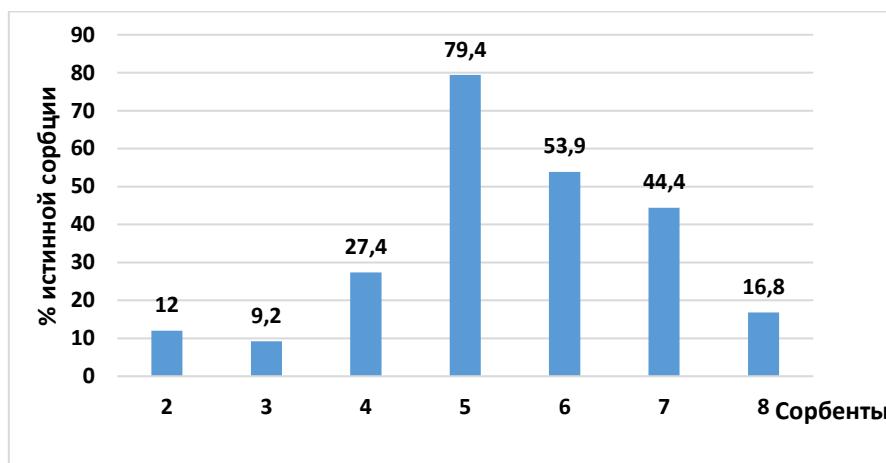
Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследования сорбционной активности различных сорбентов в отношении глифосата *in vitro* представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Поглощение и высвобождение глифосата сорбентами (n=3), (M±m)

№ п.п.	Внесено пестицида, мкг	рН-2			рН-8		
		Обнаружено пестицида, мкг	Адсорбировано, мкг	Адсорбция, %	Внесено пестицида, мкг	Обнаружено пестицида, мкг	Десорбция, %
1	50,0	50,0 ±0,00	-	-	10,0	10,0 ±0,00	-
2	50,0	37,05 ±0,60	12,95 ±0,60	25,9 ±1,20	-	6,95 ±0,11	53,9 ±3,44
3	50,0	31,55 ±0,51	18,45 ±0,51	36,9 ±1,02	-	13,85 ±0,22	75,2 ±3,34
4	50,0	33,0 ±0,53	17,0 ±0,53	34,0 ±1,07	-	3,3 ±0,05	19,5 ±0,94
5	50,0	1,35 ±0,02	48,65 ±0,02	97,3 ±0,04	-	8,95 ±0,15	18,4 ±0,31
6	50,0	0,1 ±0,00	49,9 ±0,00	99,8 ±0,00	-	22,95 ±0,37	46,0 ±0,75
7	50,0	12,6 ±0,20	37,4 ±0,21	74,8 ±0,41	-	15,2 ±0,25	40,6 ±0,88
8	50,0	29,9 ±0,48	20,1 ±0,48	40,2 ±0,97	-	11,7 ±0,19	58,3 ±2,37

Из таблицы 2 видно, что при моделировании условий желудка *in vitro* (pH-2) наиболее высокий процент адсорбции в отношении глифосата показали образец детонационного наноалмаза № 2 – 99,8 % и образец детонационного наноалмаза № 1 – 97,3 %. Образцы алмазной шихты № 1 и № 2 показали процент адсорбции 74,8 и 40,2 % соответственно. Самый низкий процент адсорбции в отношении глифосата показали диатомит № 1 – 36,9 %, растительный β -глюкан – 34,0 % и диатомит № 2 – 25,9 %. При моделировании условий кишечника *in vitro* (pH-8) наименьшая десорбция отмечалась у образца детонационного наноалмаза № 1 – 18,4 % и растительного β -глюкана – 19,5 %. Более высокий процент десорбции показали образец алмазной шихты № 1 – 40,6 %, образец детонационного наноалмаза № 2 – 46,0 %, диатомит № 1 – 53,9 %, образец алмазной шихты № 2 – 58,3 %. Наибольшее высвобождение глифосата при моделировании условий кишечника *in vitro* (pH-8) отмечалось у диатомита № 2 – 75,2 %. Показатели истинной сорбции в отношении глифосата *in vitro* представлены на рисунке.

Рисунок – Истинная сорбция глифосата *in vitro*



Из рисунка видно, что максимальную сорбционную активность в условиях *in vitro* в отношении глифосата показал образец детонационного наноалмаза № 1 – 79,4 %. Образец детонационного наноалмаза № 2 и образец алмазной шихты № 1 показали процент истинной сорбции 53,9 и 44,4 % соответственно. Самую низкую сорбционную активность в условиях *in vitro* в отношении глифосата показали растительный β -глюкан – 27,4 %, образец алмазной шихты № 2 – 16,8 %, диатомит № 1 – 12,0 %, диатомит № 2 – 9,2 %.

Заключение. На основании проведенных экспериментов установлено, что среди всех исследованных сорбентов наилучшую сорбционную активность в условиях *in vitro* в отношении глифосата показал образец детонационного наноалмаза № 1 – 79,4 %. Сорбционная активность образца детонационного наноалмаза № 2 была ниже, за счет более высокой десорбции глифосата при моделировании условий кишечника *in vitro* (pH-8), и составила 53,9 %. Остальные сорбенты показали более низкую сорбционную активность в отношении глифосата методом *in vitro*.

Финансирование исследования. Работа выполнена в соответствии с Государственным заданием по теме: 1.3.1 «Разработка средств для профилактики и лечения животных при отравлениях экотоксикантами, токсикологическая оценка ветобъектов (корма, сельскохозяйственная продукция)».

Список источников

1. Rachna. Pesticide pollution: toxicity, sources and advanced remediation approaches / Rachna, M.P. Singh, S. Goswami, U.K. Singh [et al.] // Environ Sci Pollut Res Int. – 2024. – № 31(56). P. 64385-64418. – DOI: 10.1007/s11356-024-35502-0.
2. Изучение гистоструктуры печени цыплят-бройлеров при хронической интоксикации имидаклонидом на фоне применения сорбентов / Е.Г. Губеева, К.Ф. Халикова, Д.В. Алеев [и др.] // Ветеринарный врач. – 2019. – № 1. – С. 8-12. – DOI 10.33632/1998-698X.2019-1-8-13. – EDN YYAFUT.
3. González-Moscoso, M. Glyphosate impact on human health and the environment: Sustainable alternatives to replace it in Mexico / M. González-Moscoso, D. Meza-Figueroa, N.V. Martínez-Villegas [et al.] // Chemosphere. – 2023. – № 340. – P. 139810. – DOI: 10.1016/j.chemosphere.2023.139810.

4. Kogevinas, M. Probable carcinogenicity of glyphosate / M. Kogevinas // BMJ. – 2019. – № 365. – P. 11613. DOI: 10.1136/bmj.11613.
5. Диатомиты и лигнины как адсорбенты микотоксинов / Л.С. Кочева, А.П. Карманов, А.В. Канарский [и др.] // Химия растительного сырья. – 2022. – № 2. – С. 73-84. – DOI 10.14258/jcprm.20220210730. – EDN LJBOFV.
6. 2D углеродные наноматериалы как перспективные адсорбенты урана / А.П. Карманов, А.П. Возняковский, Л.С. Кочева [и др.] // Физикохимия поверхности и защита материалов. – 2021. – Т. 57, № 5. – С. 477-486. – DOI 10.31857/S0044185621050119. – EDN IMUCUC.
7. Эффективность применения модифицированного сорбента в рационе цыплят-бройлеров при контаминации кормов экотоксикантами / З.Х. Сагдеева, Л.Е. Матросова, Э.И. Семенов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 4. – С. 39-43. – DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_39. – EDN FJNYFR.
8. Kryukov, V.S. Application of kliptilolit for the prevention of mycotoxicosis / V.S. Kryukov, V.V. Krupinin, A.N. Kotik // Veterinary. - 1992. - № 9-12. - P. 28-29.
9. Mishina, N.N. To the problem of prevention of mixed T-2 and aflatoxicosis / N.N. Mishina, E.I. Semenov, M.Ya. Tremasov // Modern Mycology in Russia. - Т.2. - М., 2008. - P. 259-260.

References

1. Rachna. Pesticide pollution: toxicity, sources and advanced remediation approaches / Rachna, M.P. Singh, S. Goswami, U.K. Singh [et al.] // Environ Sci Pollut Res Int. – 2024. – № 31(56). P. 64385-64418. – DOI: 10.1007/s11356-024-35502-0.
2. Study of the histostructure of the liver of broiler chickens with chronic imidacloprid intoxication against the background of the use of sorbents / E.G. Gubeeva, K.F. Khalikova, D.V. Aleyev [et al.] // The Veterinarian. - 2019. - No. 1. - P. 8-12. - DOI 10.33632/1998-698X.2019-1-8-13. - EDN YYAFUT.
3. González-Moscoso, M. Glyphosate impact on human health and the environment: Sustainable alternatives to replace it in Mexico / M. González-Moscoso, D. Meza-Figueroa, N.V. Martínez-Villegas [et al.] // Chemosphere. – 2023. – № 340. – P. 139810. – DOI: 10.1016/j.chemosphere.2023.139810.
4. Kogevinas, M. Probable carcinogenicity of glyphosate / M. Kogevinas // BMJ. – 2019. – № 365. – P. 11613. DOI: 10.1136/bmj.11613.
5. Diatomites and lignins as mycotoxin adsorbents / L.S. Kocheva, A.P. Karmanov, A.V. Kanarsky [et al.] // Chemistry of plant raw materials. - 2022. - No. 2. - P. 73-84. - DOI 10.14258/jcprm.20220210730. - EDN LJBOFV.
6. 2D carbon nanomaterials as promising uranium adsorbents / A.P. Karmanov, A.P. Voznyakovskiy, L.S. Kocheva [et al.] // Surface Physicochemistry and Material Protection. - 2021. - Vol. 57, No. 5. - P. 477-486. - DOI 10.31857/S0044185621050119. - EDN IMUCUC.
7. Efficiency of using a modified sorbent in the diet of broiler chickens with feed contamination with eco-toxicants / Z.Kh. Sagdeeva, L.E. Matrosova, E.I. Semenov [et al.] // The Veterinarian. - 2025. - No. 4. - P. 39-43. - DOI 10.33632/1998-698X_2025_4_39. - EDN FJNYFR.
8. Kryukov, V.S. Application of kliptilolit for the prevention of mycotoxicosis / V.S. Kryukov, V.V. Krupinin, A.N. Kotik // Veterinary. - 1992. - № 9-12. - P. 28-29.
9. Mishina, N.N. To the problem of prevention of mixed T-2 and aflatoxicosis / N.N. Mishina, E.I. Semenov, M.Ya. Tremasov // Modern Mycology in Russia. - Т.2. - М., 2008. - P. 259-260.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

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

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.
The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 28.08.2025;

**ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ
 ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА И ПРИМЕНЕНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ
 «ГЕПАТОПРОТЕКТ»**

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

Владислав Олегович Домбровский, *vlad_tavria34@mail.ru*

Алсу Магъфуровна Хафизова, *alsukhafizova@yandex.ru*

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

Ольга Константиновна Ермолаева, кандидат биологических наук, *ermolao@list.ru*

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

Марина Александровна Ерохондина, *m.eroxondina@gmail.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Лилия Евгеньевна Матросова.

Аннотация. Разработка эффективных гепатопротекторных препаратов остается актуальным направлением ветеринарной медицины. Тетрахлорметан (четырёххлористый углерод, CCl_4) – это химическое вещество, которое часто используют в экспериментах *in vitro* и *in vivo* для оценки гепатопротекторных свойств лекарственных средств. Цель исследований - оценка гистоструктуры внутренних органов цыплят-бройлеров при воздействии тетрахлорметана и применения кормовой добавки «Гепатопротект». 28 – дневные бройлеры кросса КОББ 500 были разделены на 3 равные группы (по 10 птиц в каждой). Первая группа служила биологическим контролем. Птицам второй группы однократно внутрибрюшинно вводили тетрахлорметан в дозе 1 мл/кг массы тела, третьей - тетрахлорметан внутрибрюшинно и кормовую добавку «Гепатопротект» из расчета 10 г на 1 кг корма. Кормовую добавку вводили в основной рацион ежедневно в течение 10 суток. Для гистологического исследования образцы органов фиксировали в 10 % забуференном нейтральном формалине размером не более 10x10x0,5мм, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм депарафинировали, затем окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали в светооптическом микроскопе Leica DM 1000 с цифровой камерой Leica DFC 320 (Германия). У птиц, которым вводили внутрибрюшинно однократно тетрахлорметан в дозе 1 мг/кг, выявлены признаки мелкокапельной смешанной дистрофии печени, дистрофии почек с некробиозом на некоторых участках, дистрофии кардиомиоцитов, в слизистой тонкого кишечника признаки поверхностных некробиозов. Отечность стенок сосудов. Реактивные изменения в бурсе и селезенке. В группе птиц, получавшей кормовую добавку «Гепатопротект» на фоне затравки тетрахлорметаном, выявлено положительное влияние на сохранность внутренних органов.

Ключевые слова: тетрахлорметан, гистологические изменения, кормовая добавка, цыплята-бройлеры

Для цитирования: Матросова Л.Е., Домбровский В.О., Хафизова А.М., Танасева С.А., Ермолаева О.К., Софонова А.В., Ерохондина М.А. Гистологические изменения внутренних органов цыплят-бройлеров при воздействии тетрахлорметана и применение кормовой добавки «Гепатопротект» // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 47 – 51. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_47

**HISTOLOGICAL CHANGES IN THE INTERNAL ORGANS OF BROILER CHICKENS AFTER
 EXPOSURE TO TETRACHLOROMETHANE AND THE USE OF THE FODDER ADDITIVE
 «HEPATOPROTECT»**

Lilia E. Matrosova, doctor of biological sciences, *M.Lilia.Evg@yandex.ru*

Vladislav O. Dombrovskiy, vlad_tavria34@mail.ru

Alsu M. Chafizova, alsukhafizova@yandex.ru

Svetlana A. Tanaseva, candidate of biological sciences, s-tanaseva@mail.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.erokondina@gmail.ru

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

Corresponding author: Lilia Evgenievna Matrosova.

Abstract. The development of effective hepatoprotective drugs remains an important area of veterinary medicine. Tetrachloromethane (carbon tetrachloride, CCl₄) is a chemical substance that is often used in *in vitro* and *in vivo* experiments to evaluate the hepatoprotective properties of drugs. The aim of the studies was to assess the histostructure of the internal organs of broiler chickens exposed to tetrachloromethane and the use of the feed additive Hepatoprotect. 28-day-old broilers of the Cobb 500 cross were divided into 3 equal groups (10 birds in each). The first group served as a biological control. Birds of the second group were injected intraperitoneally with tetrachloromethane at a dose of 1 ml/kg of body weight, and birds of the third group were injected intraperitoneally with tetrachloromethane and the feed additive Hepatoprotect at a rate of 10 g per 1 kg of feed. The feed additive was added to the main diet daily for 10 days. For histological examination, organ samples were fixed in 10% buffered neutral formalin, no more than 10x10x0.5 mm in size, dehydrated in increasing concentrations of alcohol, and embedded in paraffin. Sections 5-7 μ m thick were deparaffinized and then stained with hematoxylin and eosin. The preparations were examined using a Leica DM 1000 light microscope with a Leica DFC 320 digital camera (Germany). In birds that were injected intraperitoneally with tetrachloromethane at a dose of 1 mg/kg, there were signs of small-drop mixed liver dystrophy, kidney dystrophy with necrobiosis in some areas, cardiomyocyte dystrophy, and signs of superficial necrobiosis in the small intestine mucosa. Edema of the vascular walls. Reactive changes in the bursa and spleen. In a group of birds that received the Hepatoprotect feed additive in combination with tetrachloromethane, a positive effect on the preservation of internal organs was observed.

Keywords: Tetrachloromethane, histological changes, feed additive, broiler chickens

Введение. Печень - жизненно важный орган, участвующий в метаболизме. Эта функция позволяет печени фильтровать, перерабатывать и обезвреживать химические вещества, поступающие через желудочно-кишечный тракт. Печень является основным местом метаболизма ксенобиотиков, который происходит преимущественно под действием ферментов цитохрома P450 [1-2]. При воздействии ксенобиотиков в печени могут происходить патологические изменения, в том числе отёк, дегенерация, некроз и апоптоз печёночных клеток [3-4]. Повреждения печени, вызванные ксенобиотиками, могут привести к дисфункции печени, снижению продуктивности и гибели. Нарушение функции печени даже без видимых клинических признаков у животных может снизить эффективность животноводства, за счет снижения усвояемости питательных веществ и коэффициента конверсии корма [5-6].

Разработка эффективных гепатопротекторных препаратов остается актуальным направлением ветеринарной медицины [7-8]. Тетрахлорметан (четырёххлористый углерод, CCl₄) – это химическое вещество, которое часто используют в экспериментах *in vitro* и *in vivo* для оценки гепатопротекторных свойств лекарственных средств. В низких дозах CCl₄ избирательно вызывает дозозависимую токсичность в клетках печени, не оказывая существенного влияния на другие метаболические функции [9]. Токсичность CCl₄ реализуется через его биотрансформацию с помощью цитохрома P450 в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов с образованием свободных радикалов, среди которых преобладает трихлорметил (CCl₃) [10]. Модель повреждения печени, вызванного CCl₄, является эффективной, воспроизводимой стратегией для моделирования гепатотоксичности с низкой летальностью и, следовательно, чрезвычайно полезна для изучения гепатопротекторной активности. В этой работе оценены патоморфологические изменения цыплят-бройлеров при воздействии тетрахлорметана и применения кормовой добавки «Гепатопротект».

Цель исследования: оценка гистоструктуры внутренних органов цыплят-бройлеров при воздействии тетрахлорметана и применения кормовой добавки «Гепатопротект».

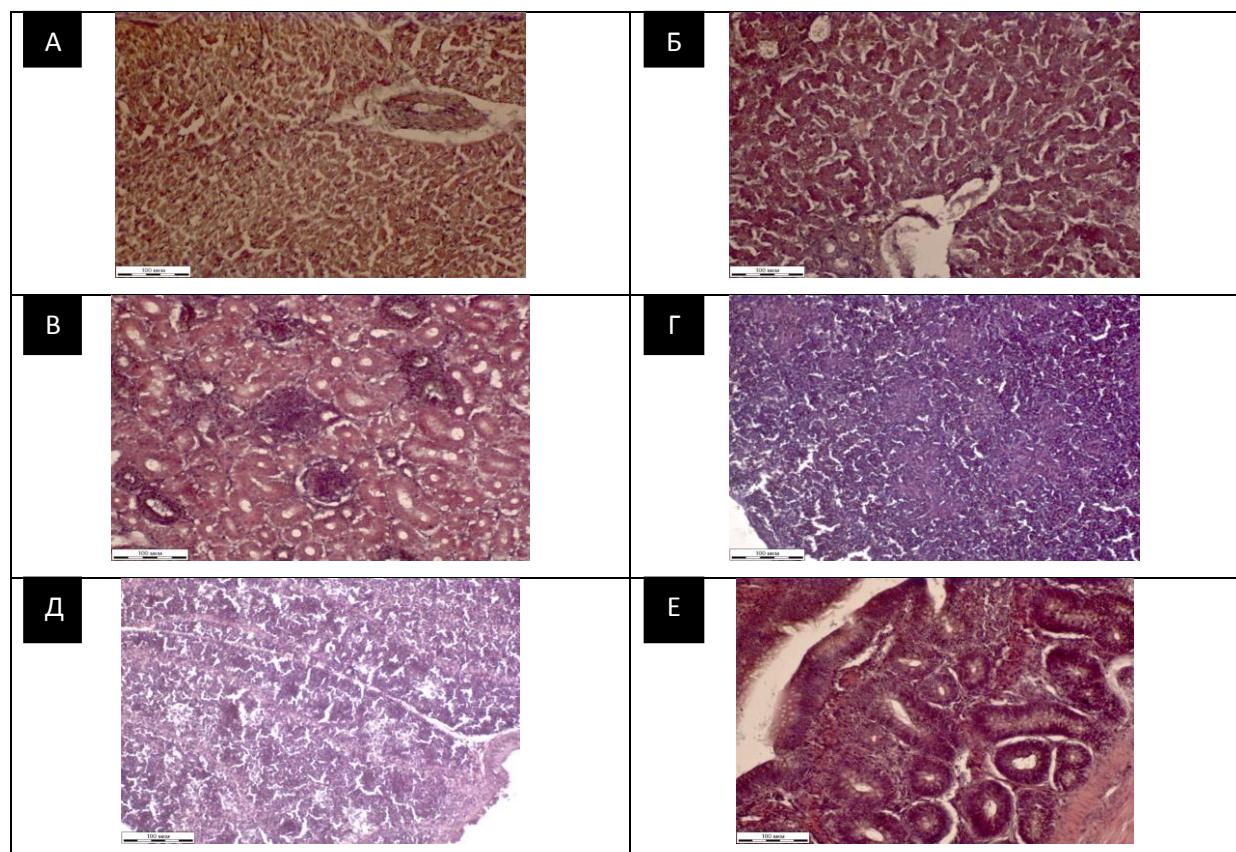
Материалы и методы. 28 – дневные бройлеры кросса КОББ 500 были разделены на 3 равные группы (по 10 птиц в каждой). Первая группа служила биологическим контролем. Птицам второй группы однократно внутрибрюшинно вводили тетрахлорметан в дозе 1 мл/кг массы тела, третьей –

тетрахлорметан внутрибрюшинно и кормовую добавку «Гепатопротект» из расчета 10 г на 1 кг кор-ма. Кормовую добавку вводили в основной рацион ежедневно в течение 10 суток.

Для гистологического исследования образцы органов фиксировали в 10 % забуференном нейтральном формалине размером не более 10x10x0,5мм, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм депарафинировали, затем окрашивали гематоксилином и эозином. Препараторы изучали в светооптическом микроскопе Leica DM 1000 с цифровой камерой Leica DFC 320 (Германия).

Результаты исследований и их обсуждение. При исследовании гистологических препаратов сердца, печени, почек, селезенки, фабрициевой сумки, мышечного желудка и тонкого кишечника цыплят-бройлеров первой и третьей группы каких-либо патологических изменений не выявлено.

Рисунок 1 – Внутренние органы (А – сердце, Б – печень, В – почка, Г – селезенка, Д – фабрициева сумка, Е – тонкий кишечник) цыпленка, второй группы, окраска гематоксилином Эрлиха и эозином водным, объектив X20



В препаратах сердца цыплят-бройлеров второй группы кардиомиоциты неравномерно окрашенные, некоторые бледные, структура нечеткая. Артериальные сосуды с утолщенными стенками, просветы пустые. Вены и капилляры малокровные Стенки венозных сосудов тонкие (рисунок 1 А).

Артерии печени малокровные, стенки их утолщенные (рисунок 1 Б). Вены и капилляры расширены с тонкими стенками. В просветах определяются эритроциты. Балочное строение нечеткое, гепатоциты некоторые деформированные. Цитоплазма неравномерно окрашенная, в клетках определяются мелкие пустоты круглой формы. Купферовские клетки базофильно окрашенные, вытянутые. Синусоидальные пространства неравномерно расширены, преимущественно пустые.

Стенки артерий почек утолщены, набухшие, просветы пустые. Вены малокровные, стенки венозных сосудов тонкие. Капилляры клубочков сдавленные. Мезангимальные клетки неравномерно окрашенные. Клетки эпителия извитых каналцев набухшие, в базальных отделах определяются мелкие круглые пустоты. В просветах каналцев эозинофильные хлопьевидные массы (рисунок 1 В).

В селезенке регистрировали малокровие. Белая пульпа представлена фолликулоподобными структурами, красная пульпа малокровная (рисунок 1 Г).

Кровенаполнение фабрициевой сумки сниженное. Дольки разделены септами. В дольках определяется корковый и мозговой слои, граница между ними прослеживается. В корковой зоне видны участки просветления по типу «звездного неба» (рисунок 1 Д).

В срезах тонкого кишечника отмечали неравномерное кровенаполнение. Слизистый слой инфильтрирован лимфатическими клетками. На поверхности ворсин гомогенные участки, структура в которых не определяется. Слизистый слой покрыт однослойным цилиндрическим эпителием с единичными бокаловидными клетками. Подслизистый слой развит слабо. Мышечная оболочка представлена кольцевидным внутренним слоем и продольным наружным. Тонкий кишечник снаружи покрыт серозной оболочкой, состоящей из рыхлых соединительнотканых волокон (рисунок 1 Е).

Заключение. У птиц, которым вводили внутрибрюшинно однократно тетрахлорметан в дозе 1 мг/кг, выявлены признаки мелкокапельной смешенной дистрофии печени, дистрофии почек с некробиозом на некоторых участках, дистрофии кардиомиоцитов, в слизистой тонкого кишечника признаки поверхностных некробиозов. Отечность стенок сосудов. Реактивные изменения в бурсе и селезенке. В группе птиц, получавшей кормовую добавку «Гепатопротект» на фоне затравки тетрахлорметаном, выявлено положительное влияние на сохранность внутренних органов.

Список источников

- Грибы рода *Aspergillus* - возбудители болезней животных и птиц / Р. М. Потехина, Е. Ю. Тарасова, Л. Е. Матросова [и др.]. – Казань : Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2020. – 121 с. – ISBN 978-5-905314-60-5. – EDN RPWZTB.
- Применение энтеросорбентов в животноводстве / К. Х. Папуниди, М. Я. Тремасов, А. А. Иванов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2010. – № 5. – С. 20-22. – EDN OIMHZX.
- Изучение защитного действия профилактических комплексов на ultraструктуру 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
- Protective effect of jiangzhi ninggan capsule on acute hepatic injury induced by dgalactosamine in mice // C.S. Xue [et al.] // Lishizhen medicine and materia medica research. – 2009. – 20. – P. 295–296.
- Stimulation of rumen microflora in cattle by using probiotic concentrate / S. YU. Smolentsev [et al.] // Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences. – 2018. – Vol. 9. - №2. – p. 948-950. – edn xvrlul.
- Смоленцев, С.Ю. Биохимические показатели крови коров при применении иммуностимуляторов в сочетании с минеральной кормовой добавкой Фелуцен / С. Ю. Смоленцев, Л.Е. Матросова, Э.И. Семенов // Зоотехния. – 2015. – № 11. – с. 16. – edn uymlod.
- Изучение гепатотоксического действия комбинированной кормовой добавки с кремнеземом и пробиотическими бактериями / Э.К. Рахматуллин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 6. – с. 20-25. – doi 10.33632/1998-698x_2023_6_20. – edn vstfoe.
- Hepatoprotective effects of a Chinese herbal formula, longyin decoction, on carbon-tetrachloride-induced liver injury in chickens / C. Wang [et al.] // Evidence-based complementary and alternative // Evidence-based complementary and alternative medicine. – 2013. - 9 doi: 10.1155/2013/392743
- Sood hepatoprotective activity of superliv liquid and repchol in ccl4 induced flks syndrome in broilers / P. Sonkusale [et al.] // J. Poult. Sci. - 2011. – 10. - p.49-55.
- Alteration of hepatic gene expression along with the inherited phenotype of acquired fatty liver in chicken / Y. Zhang // Genes (Basel).- 9: 199. DOI: 10.3390/genes9040199

References

- Fungi of the genus *Aspergillus* - causative agents of animal and poultry diseases / R. M. Potekhina, E. Yu. Tarasova, L. E. Matrosova [et al.]. – Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, 2020. – 121 p. – ISBN 978-5-905314-60-5. – EDN RPWZTB.
- The use of enterosorbents in animal husbandry / K. H. Papunidi, M. Ya. Tremasov, A. A. Ivanov [et al.] // The Veterinarian. – 2010. – № 5. – pp. 20-22. – EDN OIMHZX.
- Study of the protective effect of preventive complexes on the ultrastructure of rabbit hepatocytes in combined mycotoxicosis / E. Y. Tarasova [et al.] // The Veterinarian. – 2023. – №. 1. – pp. 57-63. - doi: 10.33632/1998-698x_2023_1_57
- Protective effect of jiangzhi ninggan capsule on acute hepatic injury induced by dgalactosamine in mice // C.S. Xue [et al.] // Lishizhen medicine and materia medica research. – 2009. – 20. – P. 295–296.

5. Stimulation of rumen microflora in cattle by using probiotic concentrate / S. YU. Smolentsev [et al.] // Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences. – 2018. – Vol. 9. - №2. – p. 948-950. – edn xvrlul.
6. Smolentsev, S.Yu. Biochemical indicators of cow blood when using immunostimulants in combination with the mineral feed additive Felucen / S. Yu. Smolentsev, L.E. Matrosova, E.I. Semenov // Zootechnics. – 2015. – No. 11. – p. 16. – edn uymlod.
7. Study of the hepatotoxic effect of a combined feed additive with silica and probiotic bacteria / E.K. Rakhmatullin [et al.] // The Veterinarian. – 2023. – No. 6. – pp. 20-25. – doi 10.33632/1998-698x_2023_6_20. – edn vstfoe.
8. Hepatoprotective effects of a Chinese herbal formula, longyin decoction, on carbon-tetrachloride-induced liver injury in chickens / C. Wang [et al.] // Evidence-based complementary and alternative // Evidence-based complementary and alternative medicine. – 2013. – 9 doi: 10.1155/2013/392743
9. Sood hepatoprotective activity of superliv liquid and repchol in ccl4 induced flks syndrome in broilers / P. Sonkusale [et al.] // J. Poult. Sci. - 2011. – 10. - p.49-55.
10. Alteration of hepatic gene expression along with the inherited phenotype of acquired fatty liver in chicken / Y. Zhang // Genes (Basel). - 9: 199. DOI: 10.3390/genes9040199

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 22.09.2025;

© Матросова Л.Е., Домбровский В.О., Хафизова А.М., Танасева С.А., Ермолаева О.К., Софронова А.В., Ерохондина М.А. 2025

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 52 – 57
 The Veterinarian. 2025; (5): 52 – 57

Научная статья
 УДК 619.615.2/661.155.3
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_52

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДЕЙСТВУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА В РОДЕНТИЦИДНОМ СРЕДСТВЕ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Айсылу Завдатовна Мухарлямова, кандидат биологических наук, *muharlyamova82@mail.ru*
 Александр Маратович Сайфутдинов, кандидат химических наук, *alex.saifutdinov@gmail.com*
 Айгуль Габделнуровна Мухамметшина, *aika.muha@yandex.ru*
 Константин Евгеньевич Буркин, кандидат технических наук, *konstantinburkin@yandex.ru*
 Сания Латфулловна Мохтарова, *vnivi@mail.ru*
 Эдуард Артурович Сагдеев, *giggles.kzn@gmail.com*
 Николай Михайлович Васильевский, доктор ветеринарных наук, профессор, *vnickm@list.ru*

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку: Мухарлямова Айсылу Завдатовна.

Аннотация. К современным типам родентицидных приманок относят брикеты, стойкие к воздействию окружающей среды, что не снижает их поедаемости грызунами. Статья посвящена определению бродифакума – одного из действующих вещества подобных приманок. Проведено исследование образцов родентицидных средств идентичного состава в виде мягких брикетов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричной детекцией при изократическом разделении компонентов пробы. В состав приманки входят масло, мука, яд, краситель и другие наполнители. Сложность анализа приманок заключается в том, чтобы избавиться от мешающих детекции аналита примесей. Апробированный в данной работе ВЭЖХ-метод позволил максимально извлечь бродифакум из матрицы объекта. Аналит детектировали в виде двух хроматографических пиков и вычисляли по их сумме. Результаты исследования показали, что содержание действующего вещества соответствовало указанной производителем на этикетке в образцах.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, родентициды, бродифакум, приманки для грызунов

Для цитирования: Мухарлямова А.З., Сайфутдинов А.М., Мухамметшина А.Г., Буркин К.Е., Мохтарова С.Л., Сагдеев Э.А., Васильевский Н.М. Определение содержания действующего вещества в родентицидном средстве методом жидкостной хроматографии // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 52 – 57. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_52

DETERMINATION OF THE ACTIVE SUBSTANCE CONTENT IN A RODENTICIDAL AGENT BY LIQUID CHROMATOGRAPHY

Aisylu Z. Mukharlyamova, candidate of biological sciences, *muharlyamova82@mail.ru*
 Aleksandr M. Saifutdinov, candidate of chemical sciences, *alex.saifutdinov@gmail.com*
 Aigul G. Mukhammetshina, *aika.muha@yandex.ru*
 Konstantin E. Burkin, candidate of technical sciences *konstantinburkin@yandex.ru*
 Saniya L. Mohtarova, *vnivi@mail.ru*
 Eduard A. Sagdeev, *giggles.kzn@gmail.com*
 Nikolai M. Vasilevsky, doctor of veterinary sciences, professor *vnickm@list.ru*

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

Corresponding author: Aisylu Zavdatovna Mukharlyamova.

Abstract. Modern types of rodenticidal baits include briquettes that are resistant to environmental influences, which does not reduce their ability to be eaten by rodents. The article is devoted to the definition of brodifacum, one of the active ingredients of such baits. Samples of rodenticidal agents of identical composition in the form of soft briquettes were studied by high-performance liquid chromatography with diode-matrix detection during isocratic separation of the sample components. The bait contains oil, flour, poison, dye and other fillers. The difficulty of analyzing baits is to get rid of impurities that interfere with the detection of the analyte. The HPLC method tested in this work made it possible to extract the maximum amount of brodifacum from the object matrix. The analyte was detected as two chromatographic peaks and calculated from their sum. The results of the study showed that the content of the active substance corresponded to that indicated by the manufacturer on the label in the samples.

Keywords: high performance liquid chromatography, rodenticides, brodifacum, rodent baits

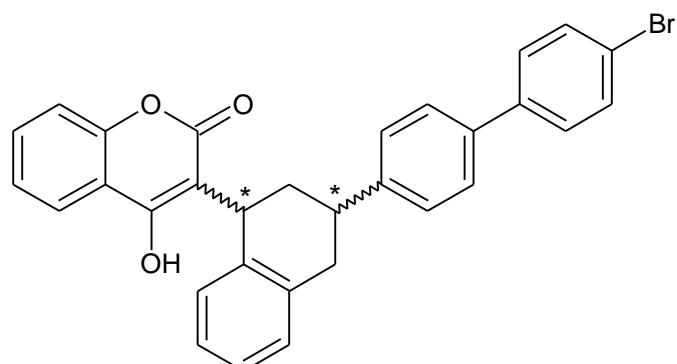
Введение. К родентицидам относят химические препараты, применяемые с целью уничтожения, отпугивания или снижения численности различных видов грызунов, как правило, мышей и крыс, выпускаемые в разнообразных формах: в виде раствора, порошка, гранул, гелей, мягких или твердых брикетов и др. Однако при их применении возможно непреднамеренное отравление нецелевых организмов в результате непосредственного поедания приманки или поедания отравленного животного домашними, дикими или сельскохозяйственными животными, что может привести к падежу или вынужденному убою, и нанести значительный ущерб экономики мясного скотоводства. Приманки на основе родентицидов представляют опасность и для людей в связи с тем что работа с такими химическими препаратами должна осуществляться с соблюдением соответствующих мер [1-3].

Различают родентициды-антикоагулянты первого поколения, относящиеся к группам оксикумаринов и инданционов (например, варфарин и дифенацин) и второго поколения - родентициды оксикумаринового ряда (например, бродифакум, дифенакум, бромодиалон и др.). Первые являются менее токсичными, в результате для достижения уничтожающего эффекта необходимо неоднократное потребление приманки на основе родентицида. Из-за высокой токсичности последних их концентрация в приманках находится на низком уровне (от 0,00025 до 0,005 %) при этом однократное их поедание приводит к гибели грызунов. Антикоагулянтами называют яды хронического действия, имеющие длительный латентный период, которые препятствуют свёртываемости крови, вызывающие внутренние кровотечения различной локации [4].

Наиболее удобными и безопасными в применении считаются тесто-брикеты, они не нуждаются в дополнительной подготовке, как правило, имеют яркую окраску (легко обнаружить в местах раскладки), в их составе есть химические вещества, которые вызывают влечение грызунов, так называемые аттрактанты.

Бродифакум ($C_{31}H_{23}BrO_3$) достаточно часто используется в качестве активного компонента приманок (рисунок 1). Он относится к родентицидам кишечного действия, нарушающий образование витамина K1. В чистом виде представляет собой порошок белого цвета без запаха, фотостабилен, обладает липофильностью. Препараты на основе бродифакума относятся ко второму и третьему классу опасности для человека.

Рисунок 1 – Структурная формула молекулы бродифакума



Для анализа бродифакума, как правило, применяют обращенно-фазовую ВЭЖХ, при этом в литературе описано несколько способов экстракции с различными растворителями. Авторы [5] пред-

лагают извлекать аналит из коммерческого родентицида раствором муравьиной кислоты в метаноле при ультразвуковой обработке в течение 15 мин с последующим анализом на ВЭЖХ с флуоресцентным детектором, исключая стадии тщательной очистки и предварительного концентрирования образца с расчетом на селективность и чувствительность детектора. В исследовании Беляева Е.С. и соавт. (2019) установлено, что наиболее подходящим растворителем для извлечения действующего вещества является ацетон в сочетании с ультразвуковой обработкой в течение 3 ч.

В работе Андреева С.В. и соавт. (2018) предложен универсальный метод экстракции бродифакума в двухфазной системе гексан-ацетонитрил (для удаления масел и парафинов, являющихся компонентами приманок, загрязняющих аналитическую колонку). Простота данного метода обеспечивается исключением стадии тщательной очистки, а какие-либо наполнители из образца рекомендуют удалять фильтрованием, при этом до ввода в хроматограф экстракт дважды пропускают через политетрафторэтиленовый фильтр (0,45 мкм).

В литературе описан метод [8], заключающийся в экстракции бродифакума в системе из двух несмешивающихся жидкостей (водный раствор щелочи – хлористый метилен), позволяющий удалить пищевой краситель из экстракта.

Таким образом, на сегодняшний день в литературе имеются различные подходы для экстракции бродифакума из родентицидных приманок. В настоящей работе проведены исследования с применением одного из вышеописанных методов.

Целью исследования являлось определение содержания действующего вещества – бродифакума в приманке для грызунов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материалы и методы. В работе применяли жидкостный хроматограф «Agilent HPLC 1100» (Agilent Technologies, США), оснащенный диодно-матричным детектором «G1315A DAD» (Agilent Technologies, США). Хроматографическое разделение осуществляли на хроматографической колонке с обратной фазой: Reprosil ODS A (250*4,6 мм, с размером частиц сорбента 5 мкм). Анализ проводили при изократическом элюировании, используя подвижную фазу (ПФ) метанол-хлористый метилен (60:40) при скорости потока, равной 1,0 мл/мин. Детектирование бродифакума осуществляли при длине волны 254 нм при комнатной температуре. Объем вводимой пробы составил 20 мкл.

Использовали стандартный образец бродифакума с чистотой 99,4% (Sigma Aldrich, США), метанол марки «для хроматографии» (Merck, Германия), уксусную кислоту (х.ч.), муравьиную кислоту (ч.д.а.), дихлорметан (х.ч.), гидроксид натрия (ч.д.а.).

Стандартный образец бродифакума в количестве 0,05 г растворяли в 20 мл хлористого метиlena и добавляли 30 мл метанола. Получали раствор с концентрацией 1,0 мг/мл (основной градуировочный раствор). Далее путем последовательного разведения готовили рабочий градуировочный раствор с концентрацией 0,2 мг/мл. Градуировочные растворы использовали свежеприготовленными.

Объектами исследования являлись два образца приманок двух различных производителей, представляющие собой тестообразную массу сине-зеленого цвета, запечатанные в фильтр-бумагу и содержащие в качестве действующего вещества родентицид - бродифакум (0,005%).

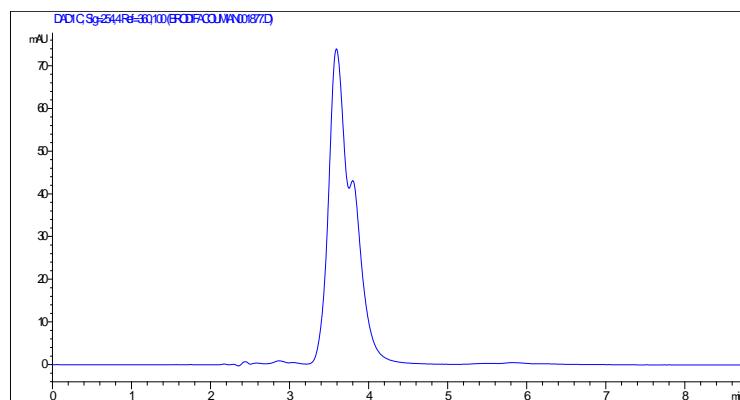
Пробоподготовку образцов родентицидного препарата, выпускавшегося в виде мягких брикетов, осуществляли следующим способом. В делительную воронку на 250 мл помещали приманку массой 3,0 г, добавляли 50 мл 0,5 М раствора гидроксида натрия и тщательно перемешивали. Далее добавляли 10 мл метанола. Экстрагировали аналит 20 мл раствора хлористого метиlena трижды. Экстракт упаривали на ротационном испарителе при температуре не выше 50 °С. Полученный концентрат охлаждали до комнатной температуры и добавляли 50 мл смеси хлористого метиlena с муравьиной кислотой. Непосредственно перед хроматографическим анализом экстракт фильтровали с помощью шприцевого политетрафторэтиленового фильтра с диаметром пор 0,22 мкм.

Результаты исследований и их обсуждение. Для достижения поставленной цели необходимо выбрать наиболее подходящий метод с учетом матрицы объекта. Поскольку исследуемые объекты содержат красители, был выбран метод жидкостно-жидкостной экстракции в системе из двух несмешивающихся жидкостей для удаления красителя из экстракта, который может оказать искажающее влияние на разделение компонентов и их удержание в хроматографической колонке. Это связано с химической природой неподвижной фазы на которой адсорбируются красители, что ведет к загрязнению колонки и появлению «ложных» пиков на хроматограммах.

Для подтверждения заявленной концентрации бродифакума в двух родентицидных средствах был апробирован ВЭЖХ метод с применением градуированных растворов концентрации 0,2 и 1,0 мг/мл, хроматографирование которых проводили четыре раза. Из полученных хроматограмм находили значение градуировочного коэффициента, который использовали для определения содержания бродифакума в пробе родентицидного средства.

На рисунке 2 представлена хроматограмма стандартного образца бродифакума, полученная в условиях применяемого ВЭЖХ метода при диодно-матричной детекции. Аналит был зарегистрирован в виде асимметричного дублета накладывающихся друг на друга хроматографических пиков с временами удерживания 3,6 и 3,9 мин. Что объясняется строением молекулы.

Рисунок 2 – Хроматограмма стандартного образца бродифакума (0,04 мг/мл)



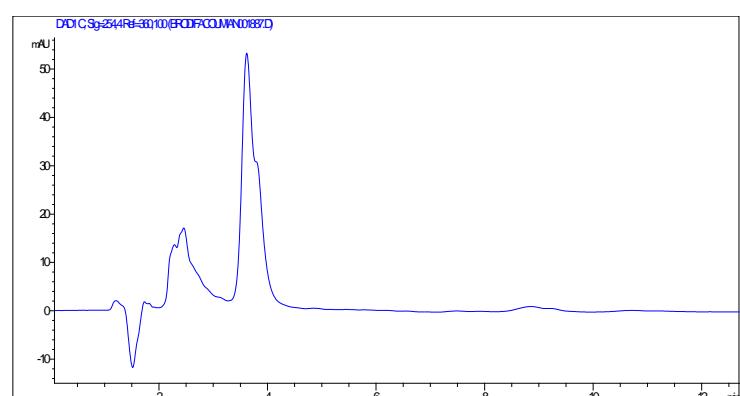
Наличие в молекуле бродифакума двух хиральных углеродных центров в циклогексановом кольце (на рисунке 1 обозначены звездочками) является причиной существования 4 стереоизомеров. Заместителями при этих центрах являются кумариноный и дифенильный фрагменты, взаимное расположение которых относительно плоскости циклогексанового кольца объясняет наличие пар цис- и транс-изомеров. Выбранные условия хроматографического анализа в совокупности с применяемой хроматографической колонкой не позволяют разделить все 4 стереоизомера отдельно, в результате чего они выходят, сгруппировавшись в два хроматографических пика. Для определения содержания бродифакума в приманках вычисляли сумму их площадей.

Коммерческие приманки на основе теста идентичного состава, содержащие в качестве активного ингредиента бродифакум в концентрации 0,005 % были проанализированы ВЭЖХ методом. Идентификацию действующего вещества проводили по времени его удерживания в хроматографической колонке. Количественное содержание бродифакума определяли методом абсолютной градуировки. Результаты содержания бродифакума в образцах приманок представлены в таблице 1. Хроматограмма экстракта приманки (образец №1) представлена на рисунке 3, аналогичная хроматограмма была получена и для образца №2.

Таблица 1 – Результаты определения содержания бродифакума в родентицидных средствах (n = 2, P = 0.95)

Родентицидное средство	Действующее вещество	Заявлено, %	Найдено, %
Образец №1	Бродифакум	0,005	0,0048±0,0003
Образец №2	Бродифакум	0,005	0,0049±0,0002

Рисунок 3 – Хроматограмма родентицидного средства на основе бродифакума (образец №1)



На представленной хроматограмме исследованного образца идентифицируется дублет с временами выхода 3,6 и 3,9 мин, имеющий характерную для бродифакума форму с более интенсивным первым пиком, и плохоразрешенным от него вторым пиком. По результатам проведенных исследований установили, что содержание бродифакума в обоих образцах приманки соответствовало указанной производителем на этикетке.

Заключение. В ходе проведенного исследования была подтверждена заявленная производителем концентрация бродифакума в двух образцах родентицидных средств в виде кусочков теста (мягкий брикет) методом жидкостной хроматографии с диодно-матричной детекцией при изократическом разделении компонентов пробы.

Список источников

1. Белокопытов С. А. Эффективность этилфенацина на основе экс-трудированных кормов / С. А. Белокопытов, А. Н. Козлов, И. В. Жуков // Ветеринарный врач. – 2008. – № 2. – С. 10-12.
2. Клементьева С.А. Родентицидная активность приманок, изготовленных на основе родентицидного средства "Изорат-5" - бродифакум // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. - 2014. - № 1(34). - С. 12-17.
3. Сайфутдинов А.М. Определение бромсодержащих кумариновых родентицидов газохроматографическим методом с масс-спектрометрической детекцией / А. М. Сайфутдинов, К. Е. Буркин, А. З. Мухарлямова, А. Г. Мухамметшина, С. Л. Мохтарова, О. В. Шлямина // Ветеринарный врач. – 2023. – № 5. – С. 21-29.
4. Яковлев А.А. Эффективность антикоагулянтов родентицидов / А. А. Яковлев, Н. В. Бабич, К. А. Драгомиров // Защита и карантин растений. - 2010. - № 1. - С. 23-25.
5. Mesmer M. Z., Satzger R. D. Determination of brodifacoum in commercial rodenticides by using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // Analyst. – 1995. - V. 120. - P. 2195-2197.
6. Belyaev E. S. Determination of brodifacoum, bromadiolone and difenacoum in commercial rodenticides by using high-performance liquid chromatography with UV detection / E. S. Belyaev, S. V. Andreev, A. O. Ivanova, A. A. Ischenko // Bulgarian Chemical Communications. -2019. – V. 51, Special Issue D. - P. 47-51.
7. Andreev S. V. Новый универсальный метод для определения антикоагулянтов второго поколения в родентицидах / S. V. Andreev, E. S. Belyaev, A. A. Ischenko // Известия высших учебных заведений. Серия «Химия и химическая технология». 2018. - № 62(1). - С. 85-90.
8. Инструкция по применению родентицидного средства «Бродефор». - Москва, 2004. - 10с.

References

1. Belokopytov S. A. Effectiveness of ethylphenacin based on extruded feeds / S. A. Belokopytov, A. N. Kozlov, I. V. Zhukov // Veterinarian. – 2008. – No. 2. – P. 10-12.
2. Klementjeva S.A. Activity of rodenticide baits made on the basis of rodenticide agent "Izorat-5" – brodifacoum // Bulletin of the V.R. Filippov Buryat State Agricultural Academy. - 2014. - No 1(34). - P. 12-17.
3. Saifutdinov A.M. Determination of bromine-containing coumarine rodenticides by gas chromatographic method with mass spectrometric / A.M. Saifutdinov, K.E. Burkin, A.Z. Mukharlyamova, A.G. Mukhammetshina, S.L. Mohtarova, O.V. Shlyamina // Veterinarian. – 2023. – No. 5. – P. 21-29.
4. Yakovlev A.A. Effectiveness of the anticoagulative rodenticides / A.A. Yakovlev, N.V. Babich, K.A. Dragomirov // Plant protection and quarantine. - 2010. - No 1. - P. 23-25.
5. Mesmer M. Z., Satzger R. D. Determination of brodifacoum in commercial rodenticides by using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // Analyst. – 1995. - V. 120. - P. 2195-2197.
6. Belyaev E. S. Determination of brodifacoum, bromadiolone and difenacoum in commercial rodenticides by using high-performance liquid chromatography with UV detection / E. S. Belyaev, S. V. Andreev, A. O. Ivanova, A. A. Ischenko // Bulgarian Chemical Communications. -2019. – V. 51, Special Issue D. - P. 47-51.
7. Andreev S. V. New universal method for determination of anticoagulants in rodenticides / S. V. Andreev, E. S. Belyaev, A. A. Ischenko // Izvestia of higher educational institutions. The series "Chemistry and Chemical Technology". - 2019. - No 62(1). - P. 85-90.

8. Instructions for the use of the rodenticidal agent "Brodefor". - Moscow, 2004. – 10p.

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 22.09.2025;

© Мухарлямова А. З., Сайфутдинов А. М., Мухамметшина А. Г., Буркин К. Е., Мохтарова С.Л., Сагдеев Э. А., Василевский Н. М. 2025

Научная статья
 УДК 636.3:619:578:577.2
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_58

ПРИМЕНЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ ВИРУСА КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В ДИСКРИНИМИРУЮЩИХ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТАХ

Алсу Рузалевна Ахунова, aahunova@inbox.ru

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

Автор, ответственный за переписку: Алсу Рузалевна Ахунова.

Аннотация. Вирус классической чумы свиней относится к роду *Pestivirus*, входящих в перечень карантинных болезней, подлежащих обязательной регистрации и оповещению Всемирной организации охраны здоровья животных. С конца 1990-х гг. и по настоящее время для профилактики этого заболевания успешно применяются живые аттенуированные вакцины отечественного производства, формирующие продолжительный и напряженный иммунитет, однако их основным недостатком является несоответствие стратегии DIVA – дифференциации вакцинированных и инфицированных животных. К DIVA-совместимым средствам диагностики вируса КЧС, которые предполагается использовать при применении маркированной вакцины, предъявляются следующие требования: тест-система должна достоверно определять антитела к вирусу КЧС, исключая ложноположительные результаты (например, перекрестные реакции с антителами к другим пестивирусам). Дифференцирующий тест основан на обнаружении антител, специфичных к гликопротеину Erns вируса КЧС, которыерабатываются у инфицированных животных и отсутствуют у животных, вакцинированных маркированной вакциной. На данный момент российский рынок средств для серологической диагностики КЧС представлен ограниченным количеством наименований и включает только ИФА-тест-системы, не учитывающие стратегию DIVA. В ходе данного исследования были получены рекомбинантные антигены E2 и Erns вируса КЧС, подлинность которых подтверждена масс-спектрометрическим анализом с покрытием аминокислотных последовательностей 93 % и 94 % соответственно. Разработана антителенная иммуноферментная тест-система на основе гликопротеина E2 вируса КЧС с чувствительностью 98,27 % (95 % ДИ: 95,0-99,6 %) и специфичностью 98,68 % (ДИ 92,9-100,0 %). Оценена диагностическая эффективность дискриминирующего ИФА-теста на основе гликопротеина Erns: полученные результаты подтверждают принципиальную возможность дифференцирования переболевших и традиционно иммунизированных животных (цельновирионными вакцинами) от животных, иммунизированных только гликопротеином E2 в монорежиме (маркированными вакцинами). Также доказана принципиальная возможность применения рекомбинантных антигенов в двойном дифференцирующем ИХА-тесте.

Ключевые слова: классическая чума свиней, серологическая диагностика, стратегия DIVA, рекомбинантные белки

Для цитирования: Ахунова А.Р. Применение рекомбинантных антигенов вируса классической чумы свиней в дискриминирующих серологических тестах // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 58 – 64. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_58

THE USE OF RECOMBINANT CLASSICAL SWINE FEVER VIRUS ANTIGENS IN DISCRIMINATING SEROLOGICAL TESTS

Alsu R. Akhunova, aahunova@inbox.ru

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

Corresponding author: Alsu Ruzalevna Akhunova.

Abstract. The classical swine fever virus belongs to the genus *Pestivirus*, which is included in the list of quarantine diseases subject to mandatory registration and notification by the World Organization for Animal Health. From the late 1990s to the present, live attenuated vaccines of domestic production have been successfully used to prevent this disease, forming long-lasting and intense immunity, but their main disadvantage is the inconsistency of the DIVA differentiation strategy of vaccinated and infected animals. The following requirements apply to DIVA-compatible diagnostic tools for the CSF virus, which are intended to be used when using a labeled vaccine: the test system must reliably detect antibodies to the CSF virus, excluding false positive results (for example, cross-reactions with antibodies to other pestiviruses). The differentiating test is based on the detection of antibodies specific to the Erns glycoprotein of the CSF virus, which are produced in infected animals and are absent in animals vaccinated with the labeled vaccine. At the moment, the Russian market of products for the serological diagnosis of CSF is represented by a limited number of names and includes only ELISA test systems that do not take into account the DIVA strategy. In the course of this study, recombinant antigens E2 and Erns of the CSF virus were obtained, the authenticity of which was confirmed by mass spectrometric analysis with 93% and 94% amino acid sequence coverage, respectively. An antibody enzyme immunoassay system based on glycoprotein E2 of the CSF virus has been developed with a sensitivity of 98.27% (95% CI: 95.0-99.6%) and a specificity of 98.68% (CI 92.9-100.0%). The diagnostic effectiveness of the discriminating ELISA test based on the Erns glycoprotein was evaluated: the results obtained confirm the fundamental possibility of differentiating over-sick and traditionally immunized animals (with whole-virion vaccines) from animals immunized only with glycoprotein E2 in monotherapy (labeled vaccines). The principal possibility of using recombinant antigens in a double differentiating IHA test has also been proven.

Keywords: classical swine fever, serological diagnostics, DIVA strategy, recombinant proteins

Введение. Вирус классической чумы свиней относится к роду *Pestivirus*, входящих в перечень карантинных болезней, подлежащих обязательной регистрации и оповещению Всемирной организации охраны здоровья животных [1]. Вирус КЧС гомологически тесно связан с вирусом вирусной диареи крупного рогатого скота (ВД КРС) и вирусом пограничной болезни овец (ПБО) [2, 3]. Геном вируса КЧС, представленный несегментированной одноцепочечной РНК длиной около 12,3 т.п.н., обладает линейной структурой, включающей 3'- и 5'-нетранслируемые области (UTR), фланкирующие одну длинную открытую рамку считывания (ORF). Среди структурных и неструктурных белков вируса КЧС к индукции специфических антител способны E2, Erns и NS3 [4, 5]. Поскольку E2 является основной мишенью для нейтрализующих антител [6], тесты на его основе широко используются для серодиагностики и оценки эффективности вакцинации против КЧС [6]. Однако тесты на основе полноразмерного E2 не позволяют дифференцировать антитела к вирусу КЧС от антител к вирусу ВД КРС. Как E2, так и Erns могут вызывать выработку нейтрализующих антител во время инфекции вируса КЧС [7].

Эффективные меры контроля включают строгие протоколы биологической безопасности и стратегии вакцинации, широко принятые во многих странах, эндемичных по КЧС [8]. В России с конца 1990-х гг. и по настоящее время для профилактики этого заболевания успешно применяются живые аттенуированные вакцины отечественного производства, формирующие продолжительный и напряженный иммунитет, однако их основным недостатком является несоответствие стратегии DIVA – дифференциации вакцинированных и инфицированных животных. В связи с широким использованием живой вакцины для профилактики КЧС в России, внедрение в практику маркированных вакцин и последующая дифференциация инфицированных и вакцинированных свиней является важной задачей в ликвидации КЧС. Еще одним быстрым и надежным диагностическим инструментом в рамках стратегий контроля инфекционных заболеваний являются ИХА [9]. На данный момент российский рынок средств для серологической диагностики КЧС представлен ограниченным количеством наименований и включает только ИФА-тест-системы, не учитывающие стратегию DIVA.

Целью данного исследования является получение рекомбинантных антигенов E2 и Erns в прокариотической системе экспрессии и оценка их пригодности для использования в дискриминирующих серологических тестах (ИФА, ИХА).

Материалы и методы.

Дизайн конструкций. Дизайн антигенных конструкций на основе фрагментов белков E2 и Erns осуществлялся при помощи классических методов биоинформационного анализа и представлены в предыдущих исследованиях автора [10, 11].

Клонирование генов вируса КЧС. Фрагменты нуклеотидной последовательности генома вируса КЧС, кодирующие белки E2 и Erns, были оптимизированы по кодонам без изменения аминокис-

лотного состава и синтезированы на аутсурсе (ЗАО «Евроген», Россия). Фрагменты генов E2 и Erns были клонированы в векторы pET-28a(+) и pET-22b(+) по сайтам рестрикции BamHI/EcoRI и XbaI/Neor соответственно. Идентичность созданных конструкций подтверждали секвенированием ДНК по Сэнгеру и рестрикционным анализом.

Трансформация компетентных клеток. Трансформацию клеток осуществляли методом теплового шока с дальнейшей селекцией на агаризованной среде с добавлением антибиотиков (50 мкг/мл канамицина, 34 мкг/мл хлорамфеникола).

Экспрессия белков E2 и Erns. Экспрессию гена индуцировали добавлением изопропил- β -D-1-тиогалактозида (ИПТГ, «Promega», США) в диапазоне концентраций 0,1-1 мМ, после чего культивировали клетки при температуре плюс 25, 30, 37 °C в течение 3-16 ч. Дополнительно оценивали возможность аутоиндукции экспрессии по Studier [12]; для этого ночную культуру продуцента инокулировали в объеме 0,1 % в аутоиндукционную среду. Отбор проб проводили ежечасно в течение всего периода культивирования и хранили при минус 20 °C для дальнейшей качественной и количественной оценки целевых белков.

Электрофорез в полиакриламидном геле. Электрофоретическое разделение белков проводили в полиакриламидном геле (ПААГ) в денатурирующих условиях. В работе использовали 5 % концентрирующий и 15 % разделяющий гели. Электрофорез проводили при напряжении 140 В в электродном буфере с использованием камеры «Mini-PROTEAN® Tetra» («Bio-Rad», США).

Диспергирование клеток штаммов-продуцентов. Размороженную клеточную массу ресуспенсиировали в лизирующем буфере (25 мМ Трис-HCl, pH 8,0, 0,5 М NaCl, 10 мМ имидазола, 5 % глицерола, 1 мМ PMSF). Разрушение клеточных стенок штамма-продуцента произвели при помощи ультразвукового гомогенизатора «Bandelin Sonopuls HD 2070» («Bandelin», Германия) при 100 % амплитуде 3 цикла по 1 минуте озвучивания с интервалом 60 с между циклами. Клеточный дебрис осаждали при 4000 g в течении 40 мин при 4 °C.

Металл-хелатная аффинная хроматография. Стандартный протокол проведения хроматографии заключался в следующем: супернатант дезинтегрированного лизата подвергали аффинной хроматографии на колонке с сефарозой, содержащей никель-нитрилтриуксусную кислоту (Ni-NTA) («Qiagen», США) по стандартному протоколу [13].

Рефолдинг денатурированного белка. Выделение телец включения (ТВ) и рефолдинг нерастворимой фракции белков проводили путем лизиса и соникации клеточного осадка, солюбилизации ТВ, экстракции белка и его рефолдинга в различных условиях, инициирующих ренатурацию белка в биологически активную форму. Об успешности рефолдинга судили по обнаружению через 18-20 ч инициации ренатурации мономерной формы целевого белка, а также по степени мутности раствора, свидетельствующей об агрегации.

Высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Образцы телец включения антигенов E2 и Erns сусpendировали в 8 М растворе мочевины с добавлением дитиотреитола (DTT) до конечной концентрации 10 мМ и инкубировали при перемешивании в течение 30 минут при 37 °C. Образцы, разбавленные в 4 раза деионизованной водой, подвергали ферментативному гидролизу эндопротеиназами GluC, AspN, LysC («New England Biolabs», Великобритания) при 37 °C в течение ночи. Для очистки и концентрирования образцов использовали твердофазную экстракцию. Анализ полученных гидролизатов проводили методом ВЭЖХ-МС/МС с использованием аппаратного комплекса на основе ВЭЖХ хроматографа 1290 Infinity II (Agilent Technologies, США), соединенного с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометром с возможностью разделения по ионной подвижности timsTOF Pro (Bruker Daltonik GmbH, США), оснащенного источником ионизации электрораспылением Appolo II.

Идентификацию белков на основании данных, полученных по результатам ВЭЖХ-МС/МС анализа гидролизатов исследуемых белков, осуществляли при следующих настройках: база данных – Erns или E2 в зависимости от исследуемого образца (базы Erns и E2 были созданы вручную на основании предполагаемой последовательности полипротеина вируса КЧС); фермент – Trypsin, GluC, LysC/AspN (указывался соответствующий фермент для каждого из проанализированных образцов); число пропущенных ферментом сайтов расщепления – 1; Precursor mass error – 15 ppm; Fragment ion error – 0,1 Да.

Статистические методы. Применили параметрические и непараметрические методы анализа выборок варьирующих переменных. Для вычислительных операций и построения графиков использовали программное обеспечение «Statistica 6.0» («StatSoft», США) и Microsoft Excel. Использовали пакет статистического программного обеспечения «MedCalc» для анализа кривых ROC. Анализ и ви-

зуализацию данных масс-спектрометрии проводили с помощью программного обеспечения «Peaks Studio X+».

Результаты исследований и их обсуждение. При дизайне антигенной композиции на основе E2 необходимым условием является отсутствие эпитопов, гомологичных с ВД КРС. Нами был выполнен дизайн усеченных белков E2 и Erns, соответствующих стратегии DIVA, после чего были трансформированы клетки *E. coli* BL21(DE3)pLysS. При оптимизации условий культивирования штамма-продуцента было установлено, что оптимальными параметрами являются: ОП культуры до индукции – 0,7 ОЕ, концентрация ИПТГ – 1 мМ, условия культивирования пост-индукции – 5-6 ч при плюс 37 °C.

После соникации клеточных осадков и скрининге растворимости было установлено, что оба штамма обеспечивают достаточно высокие уровни экспрессии целевых белков, соответствующих своим расчетным молекулярным массам: для E2 – 22 кДа, для Erns – 13,7 кДа. E2 был представлен как растворимой, так и нерастворимой формами, тогда как Erns обнаруживался преимущественно в растворимой форме, характеризуясь большим количественным выходом по сравнению с E2.

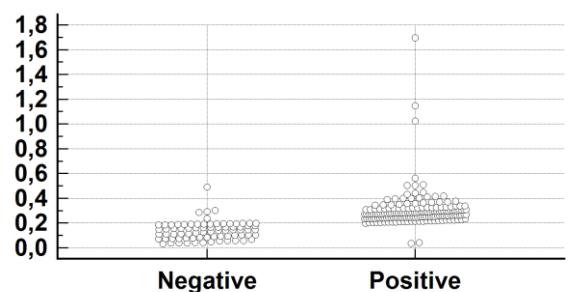
Гетерогенная экспрессия рекомбинантных белков в *E. coli* часто сопровождается агрегацией белков, которые сохраняют вторичную и третичную структуру и могут демонстрировать некоторую степень биологической активности. В ходе получения растворимого белка было установлено, что при добавлении в лизирующий буфер мочевины в концентрации 6 М, увеличении времени лизиса до 2 ч и последующем озвучивании большая часть белка переходит в растворимую форму, при этом эффективно связываясь с сорбентом, предварительно уравновешенным аналогичным буфером. Связавшиеся белки также элюировали возрастающими (до 300 мМ) концентрациями имидазола. На заключительном этапе очистки белков был проведен диализ против убывающих концентраций мочевины: 1,5 М, 0,5 М, 0,1 М. После этого ренатурированный белок был пригоден для проведения серологических реакций.

Дополнительно идентификацию белков осуществляли путем сопоставления экспериментально полученных фрагментных масс-спектров обнаруженных пептидов с теоретическими, находящимися в базе данных, посредством программного обеспечения Peaks Studio X+. Согласно данному исследованию, степень покрытия эталонных последовательностей составила 93 % для белка E2 и 94 % для белка Erns. Таким образом, по данным результатам можно сделать вывод о подлинности рекомбинантных аналогов антигенов вируса КЧС.

При оптимизации протокола постановки классического ИФА были выявлены оптимальные концентрации специфических компонентов в результате шахматного титрования было установлено, что оптимальная сенсибилизирующая концентрация антигена составляет 5 мкг/мл (\approx 50 нг на лунку), концентрация сенсибилизирующего антигена – 2 мкг/мл, оптимальное разведение тестируемых сывороток и разведение антивидового пероксидазного конъюгата составляют 1:20 и 1:10000 соответственно.

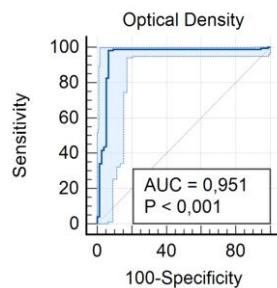
В ходе валидации тест-системы была проанализирована выборка из 173 иммунных и 76 нормальных полевых сывороток свиней. Полученные первичные данные были обработаны с применением инструментов ROC-анализа. При проверке величины отсечки для разработанного ИФА на основании результатов проверки 249 проб сыворотки крови свиней построили диаграмму (Рисунок 1) распределения полученных показателей. Диаграмма свидетельствует о том, что в интервале S/P от 0,2 до 0,4 располагались одновременно 5 референс-положительных и 5 референс-отрицательных проб, т.е. в этом диапазоне находились показатели образцов, которые могут быть классифицированы и как ложноотрицательные, и как ложноположительные. В связи с этим мы предусмотрели зону сомнительных результатов, дальнейшая работа велась с порогом отсечки 40 %.

Рисунок 1 – Точечная диаграмма результатов исследования сывороток свиней в ИФА-тесте



Чувствительность и специфичность ИФА при проверке сывороток крови свиней рассчитали для разных величин отсечки – самую высокую диагностическую чувствительность (98,27 %) с 95 % ДИ между 95,0 и 99,6 % в сочетании с самой высокой специфичностью 93,42 % (95 % ДИ: 85,3 - 97,8 %) наблюдали при значении cutoff 0,1995. Значения площади под ROC-кривой (AUC) – 0,951; стандартная ошибка – 0,0197; 95 % доверительный интервал – от 0,916 до 0,974; Z-статистика – 22,887; уровень значимости Р (площадь = 0,5) $< 0,0001$. Индекс Юдена: индекс J – 0,9169; ассоциированный критерий $>0,1995$ (Рисунок 2).

Рисунок 2 – ROC-кривая выявления антител к вирусу КЧС методом ИФА



Результаты валидации свидетельствуют о том, что разработанная тест-система на основе рекомбинантного гликопротеина E2 при установленных параметрах позволяет достоверно выявлять антитела к вирусу КЧС в сыворотках крови свиней. Для оценки пригодности тест-системы на основе усеченного рекомбинантного белка Erns к дифференциальной диагностике вируса КЧС был проведен непрямой иммуноферментный анализ с сыворотками свиней, иммунизированных традиционными вакцинами, применяемыми на территории России, а также рекомбинантным гликопротеином E2 производства ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» [11]. Полученные ранее результаты подтверждают принципиальную возможность дифференцирования при помощи полученного рекомбинантного антигена Erns переболевших животных от животных, иммунизированных только гликопротеином E2 в монорежиме. При разработке ИХА-теста необходимы стабильные неагрегирующие наночастицы коллоидного золота (НчК3), для их получения в зависимости от желаемого размера частиц к раствору золотохлористоводородной кислоты приливали различные объемы 1 % цитрата натрия, после чего наблюдали преходящее синеватое окрашивание, сменяющееся красным, свидетельствующее о нуклеации частиц и коалесценции зародышей. Анализ полученных препаратов с помощью электронной микроскопии продемонстрировал высокую гомогенность размеров частиц и близость их формы к сферической: длина большей оси составила 37 ± 8 нм, меньшей оси – 30 ± 5 нм, средний диаметр полученных частиц составил $42,44 \pm 7,48$ нм.

В связи с тем, что ИХА-тест для обнаружения вирусспецифических антител может быть реализован в нескольких вариантах [14] нами были рассмотрены несколько схем иммуноанализа – традиционная и обратная. Исходя из данных вариантов ИХА, перед нами стояла задача изготовления двух разновидностей конъюгатов на основе НчК3: с антивидовыми антителами для проведения анализа по традиционной схеме и с рефолдированными рекомбинантными антигенами E2 и Erns – для проведения анализа по обратной схеме. Для этого мы определили стабилизирующие концентрации антивидовых антител и антигенов E2 и Erns: для представленных НчК3 со средним диаметром 42 нм они составили 5 мкг/мл, 20 мкг/мл и 40 мкг/мл соответственно. Данные концентрации обеспечивали стабильность НчК3 в растворах с высокой ионной силой и были применены при конъюгировании методом простой нековалентной сшивки.

Первичная оценка показала, что применение обратной схемы ИХА с конъюгатом на основе антигена E2 обеспечивало проявление ярко окрашенных дискретных полос либо дотов, тогда как при тестировании традиционной схемы регистрировались ложноположительные результаты образцов, классифицированных по результатам ИХА как отрицательные либо сомнительные. Применение конъюгата на основе Erns в обратной схеме ИХА было менее эффективным: неспецифических взаимодействий не наблюдалось, однако чувствительность реакции значительно понизилась.

Заключение. Для создания рекомбинантных ДНК, кодирующих фрагменты усеченных пептидов E2 и Erns, нами учитывался факт перекрестной реактивности с антителами к другим пестивирусам животных: для этих целей из аминокислотных последовательностей белков были исключены фрагменты, кодирующие эпитопы, гомологичные таковым в структуре вируса ВД КРС. В результате на основе синтезированных последовательностей и вектора pET-28a(+) были сконструированы

штаммы-продуценты *E. coli*, обеспечивающие суммарную продуктивность системы до 28 мг (E2) и 30 мг (Erns) на литр бактериальной культуры. Несмотря на то, что большая часть белков экспрессировалась в виде телец включения, были подобраны протоколы хроматографической очистки в денатурирующих условиях, а также оценена эффективность «мягкой солюбилизации». Установлено, что предложенные подходы позволяют использовать диагностические антигены в рефолдированном виде, сохраняя доступность мажорных эпитопов.

Разработан ИФА-тест на основе усеченного пептида E2 для обнаружения антител к вирусу КЧС в сыворотках крови свиней. Дополнительно предусмотрена возможность использования и оценена диагностическая эффективность дискриминирующего антигена Erns: все исследованные сыворотки свиней, иммунизированных гликопротеином E2 в монорежиме, классифицировались в данном варианте теста как отрицательные. При этом специфического связывания обоих рекомбинантных антигенов с анти-ВД КРС глобулином, а также с полевыми сыворотками КРС, иммунных к вирусу ВД КРС, не наблюдалось. Прототип ИХА-теста имеет аналитическую чувствительность ≈ 100 нг/мл (для антигена E2) и ≈ 190 нг/мл (для антигена Erns), не обладает кросс-реактивностью к антителам к ВД КРС, однако при анализе образцов в разведении менее 1:10 возможны ложноположительные результаты.

Список источников

1. Classical swine fever (infection with classical swine fever virus). In: WOAH. Terrestrial Animal Health Code. 2022. Chapter 3.9.2.
2. ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae / P. Simmonds, P. Becher, J. Bukh et al. // J. Gen. Virol. 2017. Vol. 98. P. 2–3.
3. 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.
4. Lin, M. Antibody responses of pigs to defined Erns fragments after infection with classical swine fever virus / M. Lin, E. Trottier, J. Pasick // Clin Diagn Lab Immunol. 2005. №12. P. 180–186.
5. Конструирование специфических праймеров для ПЦР-диагностики классической чумы свиней / Н. И. Хаммадов, М. Е. Горбунова, Г. Р. Сальманова [и др.] // Ветеринарный врач. 2024. № 3. С. 41-46.
6. Development of an indirect ELISA for the immunoprotection evaluation of E2 antibodies against classical swine fever virus / Qi Fang, Ye Luo, T. Liang [et al.] // Journal of Virological Methods. 2024. Vol. 329. P. 114999.
7. Monoclonal antibodies targeting the Erns protein of classical swine fever virus: application for virus detection / S. Gopinath, M. Hosamani, S. Basagoudanavar [et al.] // Veterinary Immunology and Immunopathology. 2025. Vol. 286. P. 110965.
8. Efficacy of GPE– strain live attenuated vaccine and CP7_E2alf strain recombinant live vaccine (marker vaccine) against Japanese epidemic classical swine fever virus isolated in 2019 and DIVA discrimination ability of the marker vaccine / M. Yamashita, S. Iwamoto, M. Ochiai [et al.] // Research in Veterinary Science. 2025. Vol. 182. P. 105484.
9. Manessis, G. Point-of-Care Diagnostics for Farm Animal Diseases: From Biosensors to Integrated Lab-on-Chip Devices / G. Manessis, A. I. Gelasakis, I. Bossis // Biosensors (Basel). 2022. Vol. 12(7). P. 455.
10. Экспрессия в *E. Coli* маркированного рекомбинантного гликопротеина E2 вируса классической чумы свиней / А. Г. Галеева, М. А. Ефимова, К. В. Усольцев [и др.] // Международный вестник ветеринарии. 2024. № 2. С. 49-57.
11. Получение рекомбинантного гликопротеина Erns вируса классической чумы свиней для DIVA-совместимых тест-систем / А.Р. Ахунова, А.Г. Галеева, Ш.М. Насыров [и др.] // Ветеринария Кубани. 2024. № 6. С. 21-23.
12. Studier, F.W. Protein production by auto-induction in high-density shaking cultures / F.W. Studier // Protein Expression and Purification. 2005. Vol. 41(1). P. 207-234.
13. Рефолдинг и очистка рекомбинантного эктодомена рецептора эфрина A5 методом гель-фильтрации / Е. В. Бондарюк, С. Паавилайнен, О. К. Присяжненко [и др.] // Труды белорусского государственного университета. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2014. Т. 9(1). С. 129-134.
14. Сотников, Д. В. Определение специфических антител методом иммунохроматографии: количественные закономерности и практические приложения: специальность 03.01.04 : диссертация на

References

1. Classical swine fever (infection with classical swine fever virus). In: WOAH. Terrestrial Animal Health Code. 2022. Chapter 3.9.2.
2. ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae / P. Simmonds, P. Becher, J. Bukh et al. // J. Gen. Virol. 2017. Vol. 98. P. 2–3.
3. 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 of newborn calves / N. I. Hammadov, M. E. Gorbunova, M. A. Efimova [et al.] // Veterinarian. 2025. № 3. P. 98-104.
4. Lin, M. Antibody responses of pigs to defined Erns fragments after infection with classical swine fever virus / M. Lin, E. Trottier, J. Pasick // Clin Diagn Lab Immunol. 2005. №12. P. 180–186.
5. Construction of specific primers for PCR diagnostics of classical swine fever / N. I. Hammadov, M. E. Gorbunova, G. R. Salmanova [et al.] // Veterinarian. 2024. № 3. P. 41-46.
6. Development of an indirect ELISA for the immunoprotection evaluation of E2 antibodies against classical swine fever virus / Qi Fang, Ye Luo, T. Liang [et al.] // Journal of Virological Methods. 2024. Vol. 329. P. 114999.
7. Monoclonal antibodies targeting the Erns protein of classical swine fever virus: application for virus detection / S. Gopinath, M. Hosamani, S. Basagoudanavar [et al.] // Veterinary Immunology and Immunopathology. 2025. Vol. 286. P. 110965.
8. Efficacy of GPE– strain live attenuated vaccine and CP7_E2alf strain recombinant live vaccine (marker vaccine) against Japanese epidemic classical swine fever virus isolated in 2019 and DIVA discrimination ability of the marker vaccine / M. Yamashita, S. Iwamoto, M. Ochiai [et al.] // Research in Veterinary Science. 2025. Vol. 182. P. 105484.
9. Manessis, G. Point-of-Care Diagnostics for Farm Animal Diseases: From Biosensors to Integrated Lab-on-Chip Devices / G. Manessis, A. I. Gelasakis, I. Bossis // Biosensors (Basel). 2022. Vol. 12(7). P. 455.
10. Expression of the labeled recombinant glycoprotein E2 of the classical swine fever virus in E. Coli / A. G. Galeeva, M. A. Efimova, K. V. Usoltsev [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024. No. 2. P. 49-57.
11. Production of recombinant Erns glycoprotein of classical swine fever virus for DIVA-compatible test systems / A.R. Akhunova, A.G. Galeeva, Sh.M. Nasyrov [et al.] // Veterinary Medicine of Kuban. 2024. № 6. P. 21-23.
12. Studier, F.W. Protein production by auto-induction in high-density shaking cultures / F.W. Studier // Protein Expression and Purification. 2005. Vol. 41(1). P. 207-234.
13. Refolding and purification of the recombinant ectodomain of the efrin A5 receptor by gel filtration / E. V. Bondaryuk, S. Paavilainen, O. K. Prisyazhnenko [et al.] // Proceedings of the Belarusian State University. Physiological, biochemical and molecular foundations of the functioning of biosystems. 2014. Vol. 9(1). P. 129-134.
14. Sotnikov, D. V. Determination of specific antibodies by immunochromatography: quantitative patterns and practical applications: specialty 03.01.04 : dissertation for the degree of Candidate of chemical Sciences / Sotnikov Dmitry Vasilyevich, Moscow, 2016, 150 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 26.08.2025;

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 65 – 72
 The Veterinarian. 2025; (5): 65 – 72

Научная статья
 УДК 616.98:578.824.11
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_65

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОЙ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ДЕТЕКЦИИ АНТИРАБИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В КРОВИ ПЛОТОЯДНЫХ

Антонина Глебовна Галеева¹, кандидат ветеринарных наук, *antonina-95@yandex.ru*

Аделя Фоатовна Арсланова², кандидат ветеринарных наук, *just_adelya@mail.ru*

Алсу Рузалевна Ахунова³, *aahunova@inbox.ru*

Юлия Александровна Кузнецова⁴, *yulia.nikolaeva111@mail.ru*

Марина Анатольевна Ефимова⁵, доктор биологических наук, *marina-2004r@mail.ru*

^{1,2,3,4,5} Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

^{1,5} Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Антонина Глебовна Галеева.

Аннотация. Важным звеном стратегии контроля эффективности вакцинопрофилактики бешенства является определение уровней антирабических антител в сыворотках крови вакцинированных животных; индивидуальные серологические тесты проводятся также для целей международной торговли. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ, WOAH), референтными методами являются модификации реакции вируснейтрализации в культуре клеток (FAVN, RFFIT), а также иммуноферментный анализ (ИФА). Целью настоящего исследования явилась оптимизация условий иммуноферментной детекции антирабических антител в сыворотках крови плотоядных. Разработку протокола ИФА проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗЖ; в качестве сенсибилизирующего антигена использовали гликопротеин вируса бешенства (штамм «Овечий ГНКИ»), выделенный и очищенный с применением методик ультрацентрифугирования и металло-хелатной хроматографии. В ходе работы были определены оптимальные концентрации специфических компонентов: антигена, исследуемых образцов, пероксидазного конъюгата, а также оценено влияние блокирующих растворов на степень выраженности неспецифических сигналов. В ходе тестирования 26 сывороток собак с различным иммунным статусом методами FAVN и ИФА между ними была установлена значимая корреляция. Предлагаемый вариант ИФА позволял достоверно дифференцировать уровни антирабических ВНА у собак, дифференцируя их на подпороговый (менее 0,5 МЕ/мл), протективный (0,5-4 МЕ/мл) и высокий (свыше 4 МЕ/мл) уровни. Представленная методика при условии валидации на широкой выборке сывороток разных видов плотоядных может быть рекомендована в качестве простого, экспрессного и экономичного инструмента мониторинга иммунного ответа у собак, кошек и диких плотоядных после вакцинации.

Ключевые слова: бешенство, гликопротеин, иммуноферментный анализ, плотоядные, серологический мониторинг

Для цитирования: Галеева А.Г., Арсланова А.Ф., Ахунова А.Р., Кузнецова Ю.А., Ефимова М. А. Оптимизация условий полуколичественной иммуноферментной детекции антирабических антител в крови плотоядных // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 65 – 72. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_65

OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR SEMI-QUANTITATIVE ELISA DETECTION OF ANTI-RABIC ANTIBODIES IN THE BLOOD OF CARNIVORES

Antonina G. Galeeva¹, Candidate of Veterinary Sciences, *antonina-95@yandex.ru*

Adelya F. Arslanova², Candidate of Veterinary Sciences, *just_adelya@mail.ru*

Alsu R. Akhunova³, *aahunova@inbox.ru*

Yulia A. Kuznetsova⁴, *yulia.nikolaeva111@mail.ru*

Marina A. Efimova⁵, Doctor of Biological Sciences, *marina-2004r@mail.ru*

^{1,2,3,4,5} Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

^{2,5} Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman, Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Antonina Glebovna Galeeva.

Abstract. An essential component of the strategy for monitoring the effectiveness of rabies vaccination is the determination of rabies antibody levels in the serum of vaccinated animals; individual serological tests are also conducted for international trade purposes. According to the recommendations of the World Organisation for Animal Health (WOAH), reference methods include modified virus neutralization tests in cell culture (FAVN, RFFIT) as well as enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). The aim of the present study was to optimize the conditions for the immunoenzymatic detection of rabies antibodies in the serum of carnivores. The development of the ELISA protocol was carried out in accordance with WOAH recommendations; the glycoprotein of the rabies virus (sheep strain GNV) was used as the sensitizing antigen, which was isolated and purified using ultracentrifugation and metal-chelate chromatography methods. During the study, optimal concentrations of specific components were determined: antigen, test samples, peroxidase conjugate, and the influence of blocking solutions on the degree of nonspecific signal intensity was evaluated. Testing of 26 dog serum samples with varying immune statuses revealed a significant correlation between the FAVN and ELISA methods. The proposed ELISA variant reliably differentiated rabies antibody levels in dogs, categorizing them into sub-threshold (less than 0.5 IU/ml), protective (0.5-4 IU/ml), and high (above 4 IU/ml) levels. This methodology, pending validation on a larger sample of sera from various species of carnivores, is recommended as a simple, rapid, and cost-effective tool for monitoring the immune response in dogs, cats, and wild carnivores post-vaccination.

Keywords: rabies, glycoprotein, enzyme-linked immunosorbent assay, carnivores, serological monitoring

Введение. Бешенство – антропозоонозное вирусное заболевание, протекающее по типу острого менингоэнцефалита и характеризующееся абсолютной летальностью, вызывается РНК-содержащим вирусом рода *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae* [1]. За последние 20 лет результаты оценки глобальной смертности людей от бешенства варьировались от 14 тыс. до 74 тыс. смертей ежегодно, однако, как и в случаях с другими «забытыми» болезнями, данные эпидемиолого-эпизоотического надзора за бешенством недостаточны и не могут в полной мере характеризовать реальный ущерб [2]. Лабораторная диагностика бешенства играет решающую роль в дифференциации заболевания на уровне клинических проявлений, реализации мер инфекционного контроля и информировании о заболеваемости [3, 4].

Геном вируса бешенства кодирует пять белков, включая белок N, который вместе с фосфопротеином (P) и РНК-зависимой РНК-полимеразой (L) инкапсулирует геномную РНК, образуя рибонуклеопротеиновый комплекс (РНП). Сердцевина РНК окружена вирусной оболочкой, состоящей из гликопroteина (G) и матричного белка (M). Иммуногенность RABV была описана в первую очередь в отношении G, N или РНК, которая в основном состоит из белка N [5, 6]. Таким образом, белки G и N являются идеальными целевыми антигенами для оценки поствакцинального иммунитета.

Важным звеном стратегии контроля эффективности вакцинопрофилактики является определение уровней антирабических антител в сыворотках крови вакцинированных животных [7]; индивидуальные серологические тесты проводятся также для целей международной торговли. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ, WOAH), референтными методами являются модификации реакции вируснейтрализации в культуре клеток (FAVN, RFFIT), а также иммуноферментный анализ (ИФА) [8]; последний является более предпочтительным для рутинного исследования большого количества образцов. В настоящее время в России коммерчески доступен набор по обнаружению антител к вирусу бешенства в конкурентном варианте твердофазного иммуноферментного анализа «Бешенство-Ат-ИФА» (ФГБУ «ВНИИЗЖ» [9], а также сообщается о разработке тест-системы на основе конкурентного ИФА [7]. Данные тест-системы позволяют определять наличие протективных антител относительно рекомендованного предела 0,5 МЕ/мл, тогда как некоторые зарубежные тест-системы (например, «Platelia® Rabies II Kit ad usum veterinarium» («Bio-Rad», США)) позволяют дифференцировать уровни сероконверсии относительно двух положительных контролей с разной нейтрализующей активностью [10].

Целью настоящей работы явилась оптимизация условий иммуноферментной детекции антирабических антител в сыворотках крови плотоядных.

Материалы и методы.

Штаммы и образцы сывороток:

- Перевиваемая клеточная линия ВНК-21/13 (фибробласты почки сирийского хомяка) из коллекции «БиоЛоТ» (Россия), проверенная на отсутствие вируса вирусной диареи крупного рогатого скота и микоплазм методом ПЦР;
- фиксированный вирус бешенства, штамм «Овечий ВГНКИ», адаптированный к росту на перевиваемой клеточной линии ВНК-21, из коллекции ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»;
- фиксированный вирус бешенства, контрольный штамм «CVS», из коллекции ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»;
- «Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий» (ФКУЗ «РосНИПИЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Россия) с активностью 292 МЕ/мл (референс-образец);
- отраслевой стандарт антирабической сыворотки крови собаки (ФГБУ «ВГНКИ») с активностью 20 МЕ/мл (референс-образец);
- флуоресцирующий антирабический глобулин («Набор для лабораторной диагностики бешенства методом иммунофлуоресценции» по ТУ 21.10.60-001-00492374-2017), ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»;
- контрольный антирабический глобулин из сыворотки крови овцы («Набор препаратов для лабораторной диагностики бешенства животных методом иммуноферментного анализа» по ТУ 9388-025-00492374-2007), ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»;
- сыворотки крови беспородных собак (n = 21), иммунизированных антирабическими вакцинами, а также серонегативных собак (n = 5), полученных из частных ветеринарных клиник г. Казани.

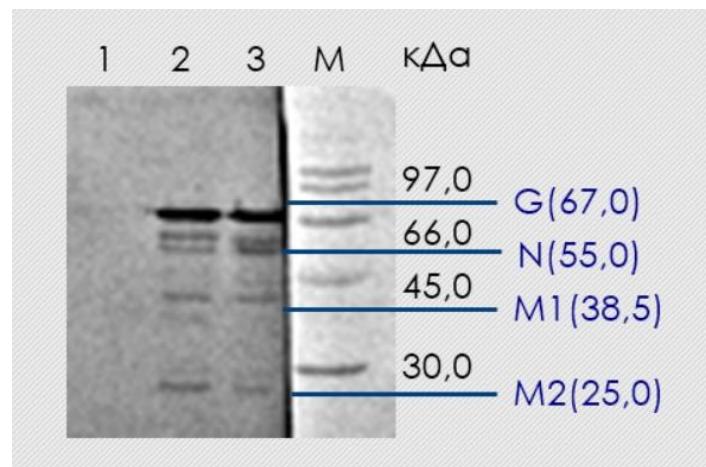
Реакция нейтрализации (РН) вируса бешенства – модификация FAVN (Fluorescent antibody virus neutralization). Тестируемые сыворотки в трехкратных последовательных разведениях 1:3, 1:9, 1:27, 1:81 инкубировали с вирусом бешенства в дозе 100 ТЦД₅₀/0,05 см³, штамм CVS, при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ в течение 1 ч. Смесь вносили в объеме 100 мкл на клеточный монослой ВНК-21, выращенный в полной ростовой среде DMEM («БиоЛоТ», Россия) в 96-луночных культуральных планшетах («Costar», США), и инкубировали в течение 1 ч. После трехкратной отмычки фосфатно-солевым буфером (ФСБ) клетки инкубировали до 48 ч и проводили качественную оценку каждой лунки на наличие флуоресценции. Титр ВНА сыворотки (D₅₀) рассчитывали по формуле Спирмена-Кербера.

Постановка непрямого ИФА. Выделение и очистку культурального антигена вируса бешенства (штамм «Овечий ГНКИ») проводили с применением методик ультрацентрифугирования, трехфазной экстракции и ионо-обменной хроматографии [11]. Контроль степени очистки и специфичности антигена осуществляли при помощи денатурирующего электрофореза в 12,5 % полиакриламидном геле и вестерн-блоттинга с овечьим антирабическим глобулином в разведении 1:1000. Разработку протокола ИФА проводили в соответствии с действующими рекомендациями ВОЗЖ (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2023, части 2.2.1, 2.2.4, 2.2.5) [12]. В ходе разработки протокола определяли оптимальные концентрации сенсибилизирующего антигена и специфического коньюгата, разведения испытуемых сывороток, длительность инкубации специфических компонентов, оценивали влияние блокирующих буферов на специфичность антиген-антителенного взаимодействия. Сенсибилизацию антигена проводили на карбонатно-бикарбонатном буфере (КББ, pH 9,6) (16 ч при 4 °С либо 3 ч при 37 °С), образцы сывороток и коньюгат вносили на фосфатно-солевом буфере с 0,05% Tween-20 (ФСБТ). После каждого этапа реакции проводилась 3-кратная промывка планшета ФСБТ. В качестве хромогенного субстрата использовали 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ, «Himedia», Индия), стоп-реагента – 0,1 М раствор серной кислоты. Оптическую плотность образцов (ОП) регистрировали на спектрофотометре «Model 680» («Bio-Rad», 680) при длине волны 450 нм. Значения ОП интерпретировали полуколичественно с указанием коэффициента позитивности (K_п) – отношения ОП опытного образца к пороговому значению, вычисленному по минимальному оптическому сигналу образцов, содержащих ВНА в концентрации выше 0,5 МЕ/мл по данным FAVN. Анализ данных проводили при помощи пакета программ «Statistica 7.0» («StatSoft», США) по критерию Манна-Уитни с поправкой на множественное сравнение. За пороговое значение статистически значимых отличий принимали *p* < 0,05.

Результаты исследований и их обсуждение. На первом этапе исследований нами были проведены выделение и очистка культурального антигена вируса бешенства для серологической диагностики. Для этих целей клетки ВНК-21 через 72-96 ч после заражения штаммом «Овечий ГНКИ» (МОI

0,01) снимали механически (скребком) и подвергали гомогенизации на приборе «FastPrep 24» («MP Biomedicals», США) на лизирующей матрице А (гранатовый песок с керамическим шариком). После низкоскоростного центрифугирования (4000 g, 20 мин) супернатант, содержащий вирионы, подвергали инактивации β -пропиолактоном в конечной концентрации 0,2 % (8 ч при 4 °C). После однократного переосаждения 25 % объемом этанола вторичный супернатант подвергали ультрацентрифугированию при 180000 g на центрифуге «Optima XE 90» («Beckman Coulter», США); осадок подвергали ионо-обменной хроматографии. Элюат (очищенный антиген) обладал следующими характеристиками: концентрация – (1,58±0,2) мг/мл, активность (титр) в антигенном варианте ИФА – не менее 1:10240, а также специфически реагировал с антирабическими глобулинами овцы в вестерн-блоте (рисунок 1).

Рисунок 1 – Блотограмма очищенного антигена вируса бешенства. Треки: 1 – интактные клетки ВНК-21; 2 и 3 – препарат антигена после дезинтеграции инфицированных клеток, ультрацентрифугирования и ионо-обменной хроматографии; М – маркер молекулярных масс «Broad Range» («Bio-Rad», США)



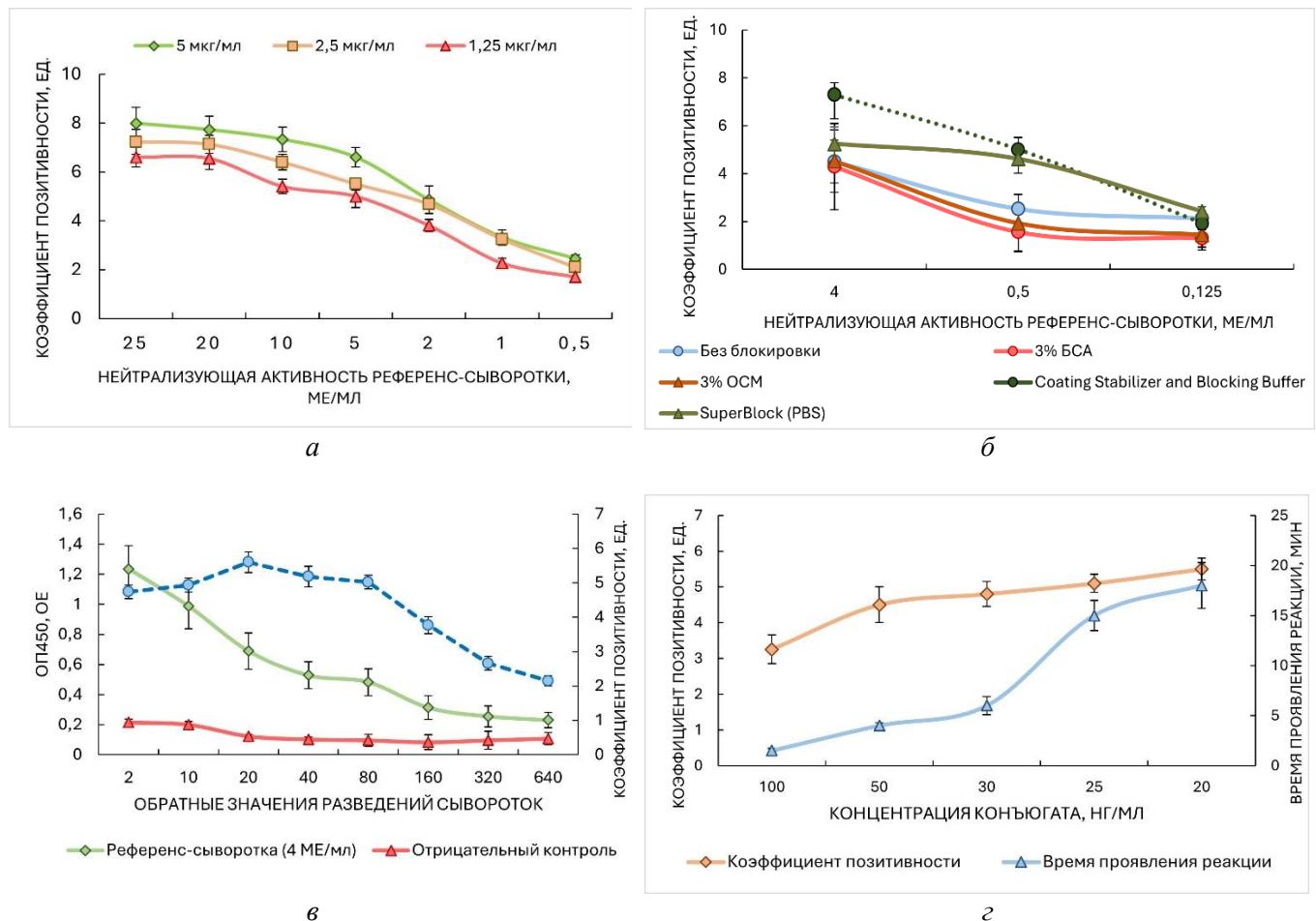
Блотограмма показывает, что в полипептидном профиле антигена преобладает гликопротеин массой 67 кДа; дополнительно визуализируется нуклеопротеин (55 кДа), а также две изоформы фосфорпротеина – М1 (38,5 кДа) и М2 (25 кДа), отличающиеся степенью фосфорилирования [13, 14].

На основе полученного диагностического антигена нами были апробированы условия постановки ИФА, включая сенсибилизирующую концентрацию (1,25-5 мкг/мл), концентрацию пероксидазного коньюгата (20-100 нг/мл), разведения испытуемых сывороток (1:20 – 1:640) и использование дополнительных блокирующих реагентов. Результаты влияния данных параметров на величину коэффициентов позитивности представлены на рисунок 2.

Из представленных диаграмм видно, что наилучшую дифференциацию образцов, содержащих антирабические антитела, от отрицательных образцов обеспечивает концентрация сенсибилизирующего антигена 5 мкг/мл, хотя для исследования образцов с уровнем антител ниже 2 МЕ/мл с такой же эффективностью может быть использована концентрация 2,5 мкг/мл. Наиболее высокие значения K_n обеспечивает разведение анализа 1:20. При подборе концентрации коньюгата во внимание брали не только величину K_n , но и время проявления реакции (специфического окрашивания в лунках планшета): так, достаточно высокие K_n , исключающие неспецифическое окрашивание, регистрировались при использовании коньюгата в концентрациях от 20 до 50 нг/мл, однако концентрации выше 25 нг/мл приводили к слишком быстрому (менее 5 мин) проявлению реакции, тогда как концентрация 20 нг/мл обеспечивала проявление в течение (18±2) мин.

Применение стандартных блокирующих реагентов (3 % растворы бычьего сывороточного альбумина и обезжиренного сухого молока на ФСБТ) в качестве отдельного этапа реакции (1 ч при 37 °C) не привело к статистически значимым изменениям, тогда как коммерческие блокирующие растворы – «Coating Stabilizer and Blocking buffer» («Sigma», США) и «SuperBlock (PBS)» («Thermo Scientific», США) позволили значительно снизить фоновые сигналы в диапазоне концентраций ВНА 0,1 – 0,5 МЕ/мл.

Рисунок 2 – Оптимизация параметров проведения ИФА: *а* – подбор сенсибилизирующей концентрации антигена, *б* – влияние блокирующих буферов на величину K_p , *в* – подбор разведения тестируемых сывороток, *г* – подбор рабочего разведения коньюгата белка А с пероксидазой хрина



В ходе многократного тестирования референс-сывороток собак было установлено, что ОП стандартных образцов с концентрацией 0,5 МЕ/мл варьируют в диапазоне от 0,25 до 0,35 ОЕ, образцов с концентрацией 4 МЕ/мл – от 0,9 до 1,05 ОЕ (при ОП отрицательных контролей 0,1-0,12 ОЕ). Таким образом, образцы с K_p от 2,08-7,2 ед. соответствуют защитному уровню антител – 0,5 МЕ/мл, K_p выше 7,2 ед.

После отработки протокола на референс-сыворотках было происследовано 26 сывороток взрослых беспородных собак, неиммунных к вирусу бешенства ($n = 3$) и вакцинированных ($n = 23$) следующими коммерческими вакцинами: «Биокан DHPPI» (без рабического компонента, «Биовета», Чехия) ($n = 2$), «Биокан DHPPI-LR» («Биовета», Чехия) ($n = 9$), «Мультикан-8» («Ветбиохим», Россия) ($n = 5$), «Рабикан» (ФКП «Щелковский биокомбинат», Россия) ($n = 9$). Сроки, прошедшие с даты последней вакцинации, у всех животных не превышали 11 мес. Результаты представлены в таблице 1.

Из таблицы видно, что все сыворотки, отобранные у вакцинированных от бешенства животных, содержали ВНА на протективном уровне (от 1,7 до 8,2 МЕ/мл), при этом в 10 образцах показатели свидетельствовали о высоком уровне сероконверсии (≥ 4 МЕ/мл). Сыворотки крови невакцинированных животных, а также животных, вакцинированных от чумы плотоядных, инфекционного гепатита, инфекционного ларинготрахеита, парвовироза и парагриппа (без рабического компонента) не проявляли в ИФА специфической активности.

Таблица 1 – Результаты исследования сывороток крови собак в трипликах

Номер образца	Иммунный статус животного, срок после последней вакцинации	Концентрация ВНА, МЕ/мл	Результаты ИФА	
			K_{π}	Интерпретация результата, МЕ/мл
1	Неиммунный	< 0,1	1,1	< 0,1
2	Неиммунный	< 0,1	0,8	< 0,1
3	Неиммунный	< 0,1	1,2	< 0,1
4	«Биокан DHPPI+LR», 5 мес	2,5	3,8	0,5 – 4
5	«Мультикан-8», 6 мес	2,1	3,7	0,5 – 4
6	«Биокан DHPPI+LR», 8 мес	3,5	3,9	0,5 – 4
7	«Биокан DHPPI+LR», 10 мес	4,9	5,6	≥ 4
8	«Рабикан», 8 мес	5,4	6,0	≥ 4
9	«Рабикан», 2 мес	6,2	6,7	≥ 4
10	«Рабикан», 3 мес	6,4	7,2	≥ 4
11	«Рабикан», 3 мес	4,7	6,5	≥ 4
12	«Рабикан», 1 мес	5,9	6,2	≥ 4
13	«Рабикан», 1 мес	6,1	5,9	≥ 4
14	«Рабикан», 11 мес	2,5	3,6	0,5 – 4
15	«Мультикан», 2 мес	5,2	6,3	≥ 4
16	«Мультикан», 2 мес	2,7	3,3	0,5 – 4
17	«Мультикан», 2 мес	4,1	5,6	≥ 4
18	«Биокан DHPPI+LR», 4 мес	3,3	4,1	0,5 – 4
19	«Биокан DHPPI+LR», 4 мес	3,7	4,2	0,5 – 4
20	«Биокан DHPPI+LR», 11 мес	2,6	3,0	0,5 – 4
21	«Биокан DHPPI+LR», 9 мес	2,9	3,2	0,5 – 4
22	«Мультикан-8», 3 мес	8,2	9,1	≥ 4
23	«Рабикан», 3 мес	1,7	2,5	0,5 – 4
24	«Рабикан», 2 мес	2,6	3,5	0,5 – 4
25	«Биокан DHPPI», 4 мес	< 0,1	1,3	< 0,1
26	«Биокан DHPPI», 4 мес	< 0,1	1,5	< 0,1

Заключение. В настоящем исследовании был разработан протокол непрямого ИФА для обнаружения антирабических антител на основе гликопротеина вируса бешенства, позволяющий полукачественно определить уровни ВНА у плотоядных, ранжируя их на подпороговый, протективный и высокий, и обладающий значимой корреляцией с методом FAVN. Представленная методика при условии валидации на широкой выборке сывороток разных видов плотоядных может быть рекомендована в качестве простого, экспрессного и экономичного инструмента мониторинга иммунного ответа у собак, кошек и диких плотоядных после вакцинации.

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

Список литературы

1. An ELISA-based method for detection of rabies virus nucleoprotein-specific antibodies in human ante-mortem samples / S. Realegeno, M. Niezgoda, P. A. Yager, et al. // PLoS One. – 2018. – N 13(11): e0207009. – doi: 10.1371/journal.pone.0207009.
2. Eliminating invisible deaths: the woeful state of global rabies data and its impact on progress towards 2030 sustainable development goals for neglected tropical diseases / C. Swedberg, K. Bote, L. Gamble, et al // Front. Trop. Dis. – 2024. – N 5: e1303359. – doi: 10.3389/fitd.2024.1303359.
3. Ashwini M. A., Pattanaik A., Mani R. S. Recent updates on laboratory diagnosis of rabies / Indian J Med Res. – 2024. – N 59(1). – pp. 48-61. – doi: 10.4103/ijmr.ijmr_131_23.

4. Получение антигена вируса бешенства методом трёхфазной экстракции / Р. М. Ахмадеев, А. Г. Мухамеджанова, Н. Р. Мифтахов и др. // Ветеринарный врач. – 2020. – № 5. – pp. 26-33. – doi: 10.33632/1998-698X.2020-5-26-33.
5. Warrell M. J., Warrell D. A. Rabies: The clinical features, management and prevention of the classic zoonosis / Clin Med (Lond). – 2015. – № 15. pp. 78-81. – doi: 10.7861/clinmedicine.14-6-78.
6. World Health Organization. Adopt one health, stop rabies: India launches new national action plan for dog mediated rabies elimination by 2030. Geneva, 2021. Electronic resource. Accessed on August 8, 2023. Available from: <https://www.who.int/news/item/25-10-2021-adopt-one-health-stop-rabies-india-launches-new-national-action-plan-for-dog-mediated-rabies-elimination-by-2030>.
7. Лобанова В. А., Клюкина В. И. Получение компонентов тест-системы на основе конкурентного иммуноферментного анализа для выявления антител к вирусу бешенства / Ветеринарный врач. – 2022. – № 2. – pp. 29-39. – doi: 10.33632/1998-698X.2022_29_39.
8. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – 2018. Chapter 3.1.17. Rabies (infection with Rabies virus and other Lyssaviruses). Available at: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf
9. Инструкция по ветеринарному применению набора по обнаружению антител к вирусу бешенства в конкурентном варианте твердофазного иммуноферментного анализа «Бешенство-Ат-ИФА». (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://shop.arriah.ru/upload/iblock/209/9zaf3vnk9sj3r6lc8370nqcbxjujax61.pdf>.
10. «Platelia® Rabies II Kit *ad usum veterinarium*» («Bio-Rad», США). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.bio-rad.com/sites/default/files/2023-09/3550180.pdf>.
11. Ретроспективная оценка эпизоотолого-эпидемиологической характеристики бешенства в Республике Татарстан в 2010-2020 гг. / Ахмадеев Р. М., Галеева А. Г., Самерханов И. И. и др. // Ветеринарный врач. – 2023. – № 4. – pp. 27-32. – doi: 10.33632/1998-698X_2023_4_27.
12. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – 2023. – Available at: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-andmanuals/terrestrial-manual-online-access/>.
13. Characterization of a slow-migrating component of the rabies virus matrix protein strongly associated with the viral glycoprotein / T. Nakahara, H. Toriumi, T. Irie, et al. // Microbiol Immunol. – 2003. – № 47(12). – pp. 977-988. – doi: 10.1111/j.1348-0421.2003.tb03458.x.
14. Dimerization of Rabies Virus Phosphoprotein and Phosphorylation of Its Nucleoprotein Enhance Their Binding Affinity / E.A. Jr. Ribeiro, C. Leyrat, F. C. A. Gérard, M. Jamin // Viruses. – 2024. – № 16(11): e1735. – doi: 10.3390/v16111735.

References

1. An ELISA-based method for detection of rabies virus nucleoprotein-specific antibodies in human ante-mortem samples / S. Realegeno, M. Niezgoda, P. A. Yager, et al. // PLoS One. – 2018. – № 13(11): e0207009. – doi: 10.1371/journal.pone.0207009.
2. Eliminating invisible deaths: the woeful state of global rabies data and its impact on progress towards 2030 sustainable development goals for neglected tropical diseases / C. Swedberg, K. Bote, L. Gamble, et al // Front. Trop. Dis. – 2024. – № 5: e1303359. – doi: 10.3389/fitd.2024.1303359.
3. Ashwini M. A., Pattanaik A., Mani R. S. Recent updates on laboratory diagnosis of rabies / Indian J Med Res. – 2024. – № 59(1). – P. 48-61. – doi: 10.4103/ijmr.ijmr_131_23.
4. Poluchenie antigena virusa beshenstva metodom tryoxfaznoj e`kstrakcii / R. M. Axmadeev, A. G. Muxamedzhanova, N. R. Miftaxov i dr. // Veterinarnyj vrach. – 2020. – № 5. – P. 26-33. – doi: 10.33632/1998-698X.2020-5-26-33.
5. Warrell M. J., Warrell D. A. Rabies: The clinical features, management and prevention of the classic zoonosis / Clin Med (Lond). – 2015. – № 15. – P. 78-81. – doi: 10.7861/clinmedicine.14-6-78.
6. World Health Organization. Adopt one health, stop rabies: India launches new national action plan for dog mediated rabies elimination by 2030. Geneva, 2021. Electronic resource. Accessed on August 8, 2023. Available from: <https://www.who.int/news/item/25-10-2021-adopt-one-health-stop-rabies-india-launches-new-national-action-plan-for-dog-mediated-rabies-elimination-by-2030>.
7. Lobanova V. A., Klyukina V. I. Poluchenie komponentov test-sistemy` na osnove konkurentnogo immonofermentnogo analiza dlya vy`yavleniya antitel k virusu beshenstva / Veterinarnyj vrach. – 2022. – № 2. – P. 29-39. – doi: 10.33632/1998-698X.2022_29_39.

8. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – 2018. Chapter 3.1.17. Rabies (infection with Rabies virus and other Lyssaviruses). Available at: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf
9. Instrukciya po veterinarnomu primeneniyu nabora po obnaruzheniyu antitel k virusu beshenstva v konkurentnom variante tverdofaznogo immunofermentnogo analiza «Beshenstvo-At-IFA». (FGBU «VNIIZZh»). Available at: <https://shop.arriah.ru/upload/iblock/209/9zaf3vnk9sj3r6lc8370nqcbxjujax61.pdf>.
10. «Platelia® Rabies II Kit ad usum veterinarium» («Bio-Rad», USA). Available at: <https://www.bio-rad.com/sites/default/files/2023-09/3550180.pdf>.
11. Retrospektivnaya ocenka e`pizootologo-e`pidemiologicheskoy xarakteristiki beshenstva v Respublike Tatarstan v 2010-2020 gg. / Axmadeev R. M., Galeeva A. G., Samerxanov I. I. i dr. // Veterinarnyj vrach. – 2023. – No 4. – P. 27-32. – doi: 10.33632/1998-698X_2023_4_27.
12. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – 2023. – Available at: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-andmanuals/terrestrial-manual-online-access/>.
13. Characterization of a slow-migrating component of the rabies virus matrix protein strongly associated with the viral glycoprotein / T. Nakahara, H. Toriumi, T. Irie, et al. // Microbiol Immunol. – 2003. – No 47(12). – pp. 977-988. – doi: 10.1111/j.1348-0421.2003.tb03458.x.
14. Dimerization of Rabies Virus Phosphoprotein and Phosphorylation of Its Nucleoprotein Enhance Their Binding Affinity / E.A. Jr. Ribeiro, C. Leyrat, F. C. A. Gérard, M. Jamin // Viruses. – 2024. – No 16(11): e1735. – doi: 10.3390/v16111735.

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 22.09.2025;

© Галеева А. Г., Арсланова А. Ф., Ахунова А. Р., Кузнецова Ю. А., Ефимова М. А. 2025

СПОСОБ ГИПЕРИММУНИЗАЦИИ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК - ПРОДУЦЕНТОВ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К БЫЧЬЕМУ АДЕНОВИРУСУ

Ринат Салаватович Мухаммадиев¹, кандидат биологических наук, *tanirtashir@mail.ru*
 Ришат Салаватович Мухаммадиев¹, кандидат биологических наук, *tashir9891@mail.ru*
 Ильсияр Габделгазизовна Каримуллина¹, кандидат биологических наук, *89047699225@mail.ru*
 Айнур Ильнурович Яруллин¹, кандидат биологических наук, *abii@mail.ru*
 Ирина Александровна Нестерова¹, *ircha-@mail.ru*
 Ленар Ильгизарович Зайнуллин¹, кандидат биологических наук, *lenarilgizayn@mail.ru*
 Михаил Геннадьевич Барышев², доктор биологических наук, *vniif@vniif.ru*

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

² Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии

Автор, ответственный за переписку: Мухаммадиев Ринат Салаватович.

Аннотация. В обеспечении продовольственной безопасности страны большое значение имеет производство рентабельной продукции животноводства, обусловленной состоянием здоровья сельскохозяйственного животного. Мероприятия по борьбе с адено-вирусной инфекцией крупного рогатого скота с целью сохранности последнего носят комплексный характер, однако их успех во многом зависит от осуществления качественной, быстрой и своевременной диагностики заболевания. Для создания современных средств диагностики адено-вирусной инфекции скота оптимальным вариантом является использование специфических (моноклональных) антител, главным источником которых по-прежнему остаются гибридные клеточные линии. В настоящей работе проведена отработка способов гипериммунизации животных для получения гибридных клеток - продуцентов моноклональных антител к бычьему адено-вирусу 3 серотипа. В качестве иммуногена применяли рекомбинантный аналог адено-вирусного гексона, полученный с помощью биоинформационного анализа, генной инженерии и аффинной хроматографии. Адьювантами служили неполный адьювант Фрейнда, полный адьювант Фрейнда и адьювант на основе гидроокиси алюминия. Выявление специфических антител к рекомбинантному антигену осуществляли в сыворотках крови иммунизированных инбредных мышей непрямым вариантом иммуноферментного анализа. Из 12 предложенных нами способов гипериммунизации показана целесообразность применения пятикратного введения мышам рекомбинантного антигена в дозе 100 мкг в сочетании с полным адьювантом Фрейнда, позволяющий получить у животных наиболее напряженный иммунный ответ (титр 1:12800). Установлена достоверная корреляционная взаимосвязь между уровнем накопления специфических антител в сыворотке крови животных и кратностью введения последним рекомбинантного антигена (коэффициент корреляции - более 0,9).

Ключевые слова: рекомбинантный антиген, бычий адено-вирус, гипериммунизация, мыши, моноклональные антитела, гибридные клетки

Для цитирования: Мухаммадиев Рин.С., Мухаммадиев Риш.С., Каримуллина И. Г., Яруллин А. И., Нестерова И. А., Зайнуллин Л. И., Барышев М. Г. Способ гипериммунизации животных для получения гибридных клеток - продуцентов моноклональных антител к бычьему адено-вирусу // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 73 – 80. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_73

METHOD FOR HYPERIMMUNIZATION OF ANIMALS TO PRODUCE HYBRID CELLS THAT PRODUCE MONOCLONAL ANTIBODIES TO BOVINE ADENOVIRUS

Rinat S. Mukhammadiev¹, candidate of biological sciences, *tanirtashir@mail.ru*

Rishat S. Mukhammadiev¹, candidate of biological sciences, tashir9891@mail.ru
 Ilsiyar G. Karimullina¹, candidate of biological sciences, 89047699225@mail.ru
 Ainur I. Yarullin¹, candidate of biological sciences, abii@mail.ru
 Irina A. Nesterova¹, vnivi@mail.ru
 Lenar I. Zainullin¹, candidate of biological sciences, lenarilgizayn@mail.ru
 Mikhail G. Baryshev¹, doctor of biological sciences, vniif@vniif.ru

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

² All-Russian Research Institute of Phytopathology

Corresponding author: Rinat Salavatovich Mukhammadiev.

Abstract. In ensuring the country's food security, the production of profitable livestock products, determined by the health of farm animals, is of essential importance. Measures to combat bovine adenovirus infection to preserve the latter are comprehensive, but their success largely depends on high-quality, rapid, and timely diagnosis of the disease. The optimal option in the development of modern diagnostic tools for bovine adenovirus infection is the use of specific (monoclonal) antibodies, the main source of which remains hybrid cell lines. In this work, we developed animal hyperimmunization schemes to obtain hybrid cells producing monoclonal antibodies to bovine adenovirus serotype 3. A recombinant analogue of adenoviral hexon, obtained using bioinformatics analysis, genetic engineering and affinity chromatography, was used as an immunogen. The adjuvants were incomplete Freund's adjuvant, complete Freund's adjuvant, and aluminum hydroxide adjuvant. The detection of specific antibodies to the recombinant adenovirus antigen was carried out in the blood sera of immunized inbred mice using enzyme-linked immunosorbent assay. Of the 12 hyperimmunization regimens we proposed, we demonstrated the feasibility of administering mice five times a day with 100 µg of recombinant antigen in combination with complete Freund's adjuvant, which elicits the most intense immune response (titer 1:12800). A reliable correlation was established between the level of specific antibody accumulation in the animals' serum and the frequency of recombinant antigen administration (the correlation coefficient was greater than 0.9).

Keywords: recombinant antigen, bovine adenovirus, hyperimmunization, mice, monoclonal antibodies, hybrid cells

Введение. Обеспечение эффективного и устойчивого развития животноводства путем внедрения инновационных технологий является приоритетной задачей государственной политики в сфере развития агропромышленного комплекса [1]. Национальные и государственные приоритеты в сфере продовольственной безопасности предусматривают улучшение качества жизни населения за счет обеспечения их экологически чистыми и безопасными продуктами питания, а промышленность – сырьем животного происхождения [2]. Тем не менее, успешное развитие отраслей животноводства существенно сдерживается существующими заболеваниями сельскохозяйственных животных [3, 4].

В современных условиях агропромышленных комплексов применение низкокачественных и токсичных кормов, их недостаток, дефицит постоянного рациона питания или резкая их смена, применение кормовых антибиотиков, несоблюдение удовлетворительных условий содержания сельскохозяйственных животных приводят к развитию стрессовых состояний и нарушению обмена веществ в их организме [5]. Эти причины снижают адаптационные возможности сельскохозяйственных животных, в результате которых развиваются иммунодефициты, снижающие сопротивляемость организма к различным инфекциям.

В последние годы в промышленном животноводстве широко распространены инфекционные болезни бактериального (хламидиоз, сальмонеллез, эшерихиоз, стрептококкоз) и вирусного (парагрипп-3, вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек, корона-, адено-, ротавирусные инфекции, инфекционный ринотрахеит) происхождения [6, 7]. Последние могут составлять около 80 % всех инфекционных заболеваний животных (в том числе пушных зверей и птиц). Среди них повышенный интерес отводится адено-вирусной инфекции (АВИ) крупного рогатого скота (КРС), способный наносить значительный ущерб животноводству [8, 9].

Сравнение сведений по распространенности АВИ, представленных различными открытыми источниками (в том числе учреждениями государственной ветеринарной службы, специалистами ветеринарной службы в хозяйствах, предприятиями и учреждениями, в которых имеются ветеринарные службы, Россельхознадзором, Всемирной организацией здравоохранения животных) на территории РФ за период 2022-2023 годов позволило выявить отсутствие точных данных по частоте встречаемости возбудителя данной инфекции у КРС и различие имеющихся сведений в зависимости от географии.

фии исследуемой популяции. Отсутствуют и убедительные доказательства относительно предрасположенности тех или иных пород животных к возникновению АВИ.

Важным условием успешной борьбы с вирусными инфекциями сельскохозяйственных животных является своевременная, быстрая и правильно проведенная диагностика с применением высокоточного диагностического метода обследования, способствующего выявлению заболевания [10, 11]. Следовательно, разработка и усовершенствование методов лабораторной диагностики АВИ КРС, а также внедрение их в ветеринарную практику является актуальной задачей современной ветеринарной медицины. Вместе с тем, диагностика АВИ становится все более сложной задачей из-за эволюции их клинического течения, полиэтиологичности, широкого распространения микст-инфекций у взрослых КРС, наличия различных типов вируса, характеризующихся генетическим разнообразием [8, 9]. Поэтому при разработке диагностических тест-систем требуется учитывать указанные факторы.

Известно, что общепринятые методы диагностики АВИ (выделение вируса в чувствительной культуре клеток, реакция нейтрализации в культуре клеток, и другие) трудоемки, длительны, имеют достаточно невысокую специфичность и поэтому не всегда оказываются достаточно оперативными при вспышках заболевания [12, 13]. Поликлональные антисыворотки, применяемые в ветеринарной практике, нестандартны по уровню активности и способны характеризоваться перекрестной реактивностью с некоторыми другими иммуноглобулинами. Наиболее быстрыми и эффективными (чувствительными) являются молекулярно-генетические методы (полимеразно-цепная реакция), однако многие из них находятся на стадии разработки и лабораторной апробации, а также не получают количественного применения вследствие определенных ограничений [14, 15]. Для создания современных средств иммунодиагностики АВИ оптимальным вариантом является использование специфических (моноклональных) антител [15], главным источником которых по-прежнему остаются гибридные клеточные линии.

Цель настоящего исследования - отработка способов гипериммунизации животных для получения гибридных клеток - продуцентов моноклональных антител к аденоовирусу крупного рогатого скота 3 серотипа.

Материалы и методы. В работе применяли рекомбинантный аналог гексона аденоовируса крупного рогатого скота («Adeno III WBR-1») 3 серотипа (BAdV-3), полученный с помощью биоинформационного анализа, генной инженерии и аффинной хроматографии. Адьювантами служили неполный адьювант Фрейнда (НАФ) (Difco Laboratories Inc., США), полный адьювант Фрейнда (ПАФ) (Sigma, США) и адьювант на основе гидроокиси алюминия (ГА) (Brenntag Biosector, Дания). Эксперименты осуществляли, опираясь на требования ГОСТ 33216-2014 и Директивы 2010/63/EU, с использованием 36 самок инбредных мышей линии BALB/c (возраст 8 - 12 недель, масса 18-20 г).

Иммунизацию инбредных мышей осуществляли однократным внутрибрюшинным введением 0,1 мл растворимого белкового антигена (25, 50, 100 и 150 мкг), смешанного с равным объемом соответствующего адьюванта [16]. Через 2-3 недели животных повторно иммунизировали рекомбинантным антигеном (25, 50, 100 и 150 мкг) без адьювантов (растворенный в физиологическом растворе, pH от 7,2 до 7,4 ед). Через 2-4 недели после последнего введения отбирали пробы из хвостовой вены мышей для выявления животных с наибольшим титром антител (использовали метод иммуноферментного анализа (ИФА)) и их иммунизировали внутрибрюшинно в течение 3 дней антигеном (25, 50, 100 и 150 мкг) без адьювантов. После 2-5 суток после внутрибрюшинной гипериммунизации животных, имеющих наибольшую величину титров специфических антител в сыворотке их крови, подвергали эвтаназии и асептически изымали селезенку для дальнейших работ по получению гибридных клеток - продуцентов моноклональных антител к бычьему аденоовирусу.

Выявление специфических антител к рекомбинантному антигену аденоовируса осуществляли в сыворотках крови иммунизированных инбредных мышей методом ИФА, как описано нами ранее [11]. Реакцию проводили по непрямому варианту твердофазного метода с использованием антивидового иммунопероксидазного конъюгата к Ig быка (Sigma, США). Сыворотка крови мышей титровали против иммобилизованного в лунках планшета антигена. Для определения титра антител в исследуемых образцах рассчитывали коэффициент связывания антигена (Ксв) сывороточными антителами путем измерения оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 450 нм. В качестве отрицательного контроля служила сыворотка крови неиммунизированной (интактной) мыши. Положительным контролем являлась сыворотка мышей, иммунизированных антигеном аденоовируса. Расчет полученных результатов осуществляли по формуле: $K_{\text{св}} = (I-O) \times 100\% / (I-O)$, где I – среднее арифметическое значение оптической плотности для каждой испытуемой пробы, ед.; O – средние

арифметические значения оптической плотности отрицательного контроля, ед.; П – средние арифметические значения оптической плотности положительного контроля, ед.

Анализ полученных результатов осуществляли пакетом электронных таблиц программы Microsoft Office Excel 2013 («Windows», США) и Statistica 12.0 («StatSoft Inc.», США). В работе применяли t-критерий Стьюдента, достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. В настоящее время не существует универсального подхода иммунизации тех или иных животных, гарантирующий получение качественных высокоспецифичных антител [16]. Основное условие получения достаточно высокого уровня содержания специфических иммуноглобулинов (антител) – подбор оптимальной схемы иммунизации животных. При оптимизации способа гипериммунизации лабораторных животных требуется учитывать природу используемых компонентов, количество инъекций и концентрацию вводимого антигена. На начальном этапе для получения желаемого иммунного ответа в виде активной выработки необходимого количества антител осуществляли подбор числа инъекции рекомбинантным антигеном BAdV-3 и эффективного адьюванта, способного стимулировать иммунную систему животного. Нами были разработаны 12 схем гипериммунизации лабораторных животных (инбредных мышей), которые различались кратностью введения аденоовирусного гексона и используемым адьювантом (таблица).

Таблица – Схемы иммунизации инбредных мышей рекомбинантным антигеном BAdV-3

№ схемы	№ группы животных	Число инъекций	Используемый адьювант*	Доза антигена на одну инъекцию, мкг
1	1 (n=3)	3	НАФ	50
	2 (n=3)	3	ПАФ	50
	3 (n=3)	3	ГА	50
	4 (n=3)	3	ФР	50
2	5 (n=3)	4	НАФ	50
	6 (n=3)	4	ПАФ	50
	7 (n=3)	4	ГА	50
	8 (n=3)	4	ФР	50
3	9 (n=3)	5	НАФ	50
	10 (n=3)	5	ПАФ	50
	11 (n=3)	5	ГА	50
	12 (n=3)	5	ФР	50

*Примечание: НАФ – неполный адьювант Фрейнда, ПАФ – полный адьювант Фрейнда, ГОА – адьювант на основе гидроокиси алюминия, ФР – физиологический раствор

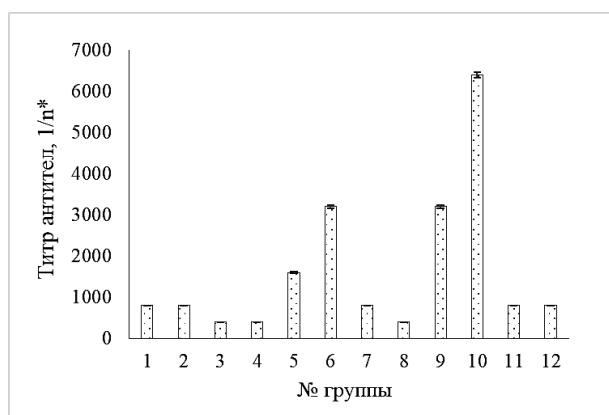
Установлено, что при применении ПАФ рекомбинантный аналог гексона BAdV-3 обладал более высокой иммуногенностью по сравнению с указанным антигеном в сочетании с неполным адьювантом Фрейнда или гидроокисью алюминия (рисунок 1). Максимальные титры антител у животных были обнаружены при использовании схемы иммунизации № 3, где число инъекции составило 5 раз.

При использовании схемы № 1, наибольшая величина титров специфических антител наблюдали в крови групп животных, которых иммунизировали рекомбинантным антигеном в сочетании с адьювантами НАФ и ПАФ (титр 1:800). При применении схем № 2 и № 3, наибольшее значение титров специфических антител отмечали в крови групп животных, иммунизированных аденоовирусным гексоном в сочетании с ПАФ (соответственно титр 1:3200 и 1:6400).

Для дальнейшего увеличения титра специфических антител осуществляли подбор концентрации вводимого иммуногена. Полученный рекомбинантный антиген вводили лабораторным животным в концентрациях 25, 50, 100 и 150 мкг (рисунок 2).

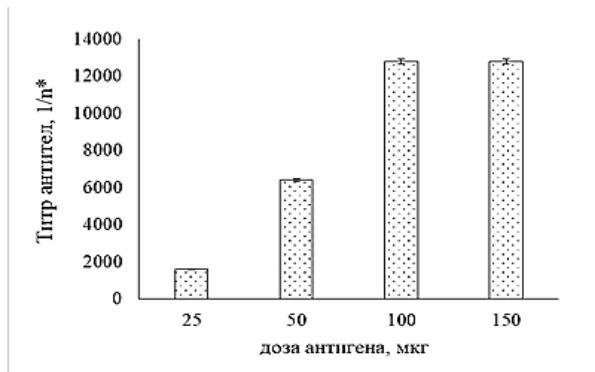
Оценка иммуногенности антигена аденоовириуса показало, что доза иммуногена, при которой отмечали максимальное повышение титра специфических антител в крови животных, находилась в пределах от 100 до 150 мкг (титр 1:12800). Остальные концентрации рекомбинантного аналога гексона характеризовались различной степенью иммуногенности, тем не менее, их иммуногенность была значительно ниже относительно указанных доз.

Рисунок 1 – Титр специфических антител в крови животных после введения рекомбинантного гексона BAdV-3 в сочетании с адьювантами



n^* - обратные величины титров антител

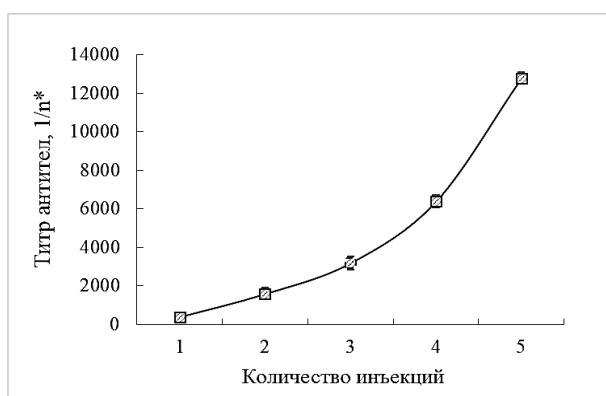
Рисунок 2 – Титр специфических антител в крови животных после введения различных доз рекомбинантного гексона BAdV-3



n^* - обратные величины титров антител

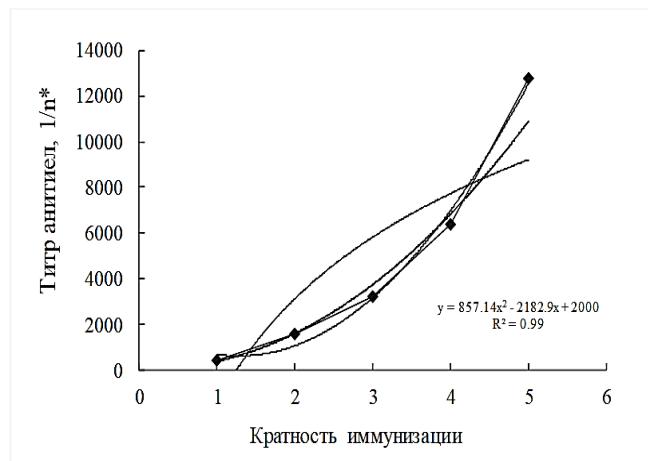
Следовательно, пятикратная иммунизация животных рекомбинантным антигеном BAdV-3 в дозах от 100 до 150 мкг в комбинации с ПАФ позволило получить у них наиболее напряженный иммунный ответ. Однако для введения иммуногена животным с учетом его расхода в сторону уменьшения предпочтение следует отдавать схеме, где количество аденоовирусного антигена составляет 100 мкг на одну инъекцию. С целью установления времени максимального содержания антител в крови и оптимизации продолжительности введения рекомбинантного антигена BAdV-3 осуществляли изучение динамики накопления специфических антител в зависимости от кратности гипериммунизации лабораторных животных (рисунки 3 и 4).

Рисунок 3 – Уровень накопления специфических антител в крови животных после введения рекомбинантного гексона BAdV-3



n^* - обратные величины титров антител

Рисунок 4 – Динамика накопления специфических антител в зависимости от кратности гипериммунизации лабораторных животных



n^* - обратные величины титров антител

Установлено, что количество специфических антител в крови животных увеличивалось, начиная с 14 дня введения рекомбинантного аналога гексона. Максимальные значения титров антител отмечали после пятикратного введения вирусного антигена животным. Величина коэффициента корреляции между титром антител и количеством введения иммуногена составляла более 0,9, что указывает о высокой (сильной) прямой корреляционной связи между изучаемыми показателями.

Заключение. Таким образом, из 12 предложенных нами способов гипериммунизации целесообразно применять пятикратное введение мышам рекомбинантного антигена BAdV-3 в дозе 100 мкг в сочетании с полным адьювантом Фрейнда. Оценка корреляционной взаимосвязи между показателем накопления специфических антител мышей и числом введения последним антигена аденоовируса выявила их зависимость: чем больше была кратность иммунизации животных, тем более высоким иммуногенным потенциалом обладал вирусный гексон.

Список источников

1. Разуваев Р.А., Цацулин А.Н. Каковы ближайшие перспективы реализации инновационной активности отечественного АПК // Управленческое консультирование. – 2022. – № 3. – С. 95-107. doi: 0.22394/1726-1139-2022-3-95-107.
2. Кузина С.И., Сагирян И.Г. Угрозы продовольственной безопасности российского государства в современных условиях // Правовой порядок и правовые ценности. – 2024. – Т. 2. – № 1. – С. 54-63. doi:10.23947/2949-1843-2024-2-1-54-63.
3. Kappes A., Tozooneyi T., Shakil G., Railey A.F., McIntyre K.M., Mayberry D.E., Rushton J., Pendell D.L., Marsh T.L. Livestock health and disease economics: a scoping review of selected literature // Front. Vet. Sci. – 2023. – Vol. 10. – 1168649. doi: 10.3389/fvets.2023.1168649.
4. Каримуллина И.Г., Яруллин А.И., Мухаммадиев Р.С., Мухаммадиев Р.С., Сорокина Д.А., Хусаинова Г.И., Гумеров В.Г. Подбор условий выращивания бычьего герпесвируса и бычьего вируса вирусной диареи на культурах клеток // Ветеринарный врач. – 2025. – № 2. – С. 68-76. doi: 10.33632/1998-698X_2025_2_68.
5. Kang D., Lungu S.E., Dango F., Dzou C.F., Chen Y., Zheng X., Nie F., Lin H., Chen J., Zhou G. Animal health and nutrition: metabolic disorders in cattle and improvement strategies // Front. Vet. Sci. – 2025. – Vol. 12. – 1470391. doi: 10.3389/fvets.2025.1470391.
6. Каримуллина И.Г., Яруллин А.И., Мухаммадиев Р.С., Мингалеев Д.Н., Сорокина Д.А., Мухаммадиев Р.С., Хафизова А.М., Гумеров В.Г. Серологический мониторинг респираторных и желудочно-кишечных заболеваний крупного рогатого скота в молочных комплексах Приволжского федерального округа // Ветеринария Кубани. – 2025. – № 2. – С. 13-15. doi: 10.33861/2071-8020-2025-2-13-16.
7. Петрова О.Г., Баранова А.А., Загородских О.Д. Система эпизоотологического надзора и мониторинга инфекционных болезней крупного рогатого скота // БИО. – 2023. – № 3 (258). – С. 16-21.

8. Werid G.M., Ibrahim Y.M., Girmay G., Hemmatzadeh F., Miller D., Kirkwood R., Petrovski K. Bovine adenovirus prevalence and its role in bovine respiratory disease complex: A systematic review and meta-analysis // *Vet. J.* – 2025. – Vol. 310. – 106303. doi: 10.1016/j.tvjl.2025.106303.
9. 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. – N 8. – pp. 778-809. doi: 10.3390/vetsci12080778.
10. Хаммадов Н.И., Горбунова М.Е., Сальманова Г.Р., Фахрутдинов Н.А., Гулюкин А.М., Галеева А.Г., Громова Е.А. Конструирование специфических праймеров для пцр-диагностики классической чумы свиней // Ветеринарный врач. – 2024. – № 3. – С. 41-46. doi: 10.33632/1998-698X_2024_3_41.
11. Мухаммадиев Р.С., Каримуллина И.Г., Яруллин А.И., Сорокина Д.А., Хаертынов К.С., Галеева А.Г., Мухаммадиев Рин.С., Хафизова А.М. Очистка антигенов штамма «ТК-А (ВИЭВ)-В2» бычье альфагерпесвируса биотипа 1 // Ветеринария Кубани. – 2025. – № 3. – С. 1-7. doi: 10.33861/2071-8020-2025-3-3-7.
12. Dolskiy A.A., Grishchenko I.V., Yudkin D.V. Cell cultures for virology: usability, advantages, and prospects // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21. – N 21. – 7978. doi: 10.3390/ijms21217978.
13. Leland DS, Ginocchio CC. Role of cell culture for virus detection in the age of technology // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2007. – Vol. 20. – N 1. – pp. 49-78. doi: 10.1128/CMR.00002-06.
14. Barnewall R.J., Marsh I.B., Quinn J.C. Meta-analysis of qpcr for bovine respiratory disease based on miqe guidelines // *Front. Mol. Biosci.* – 2022 – Vol. 9. – 902401. doi: 10.3389/fmlob.2022.902401.
15. Wu L., Lin Y., Yin J., Yang C., Jiang Y., Zhai L., Wang Y., Zhu L., Wu Q., Zhang B., Wan C., Zhao W., Yang Y., Shen C., Xiao W. Development of monoclonal antibodies targeting the conserved fragment of hexon protein to detect different serotypes of human adenovirus // *Microbiol. Spectr.* – 2024 – Vol. 12. – N 4. – e0181623. doi: 10.1128/spectrum.01816-23.
16. Иващенко Т.А., Романенко Я.О., Марьин М.А., Карцева А.С., Силкина М.В., Зенинская Н.А., Шемякин И.Г., Фирстова В.В. Оценка эффективности различных адьювантов при получении мышиных моноклональных антител к рецептор-связывающему домену S-белка SARS-CoV-2 // Иммунология. – 2023. – Т. 44. – № 4. – С. 481-490. doi:10.33029/1816-2134-2023-44-4-481-490.

References

1. Razuvayev R.A., Tsatsulin A.N. What are the immediate prospects for the implementation of innovative activity of the domestic agro-industrial complex // Administrative Consulting. – 2022. – No 3. – P. 95-107. doi: 10.22394/1726-1139-2022-3-95-107.
2. Kuzina S.I., Sagiryan I.G. Threats to the food security of the Russian State in the modern settings. – Legal order and legal values. – 2024. – Vol. 2. – No 1. – P. 54-63. doi: 10.23947/2949-1843-2024-2-1-54-63.
3. Kappes A., Tozooneyi T., Shakil G., Railey A.F., McIntyre K.M., Mayberry D.E., Rushton J., Pendell D.L., Marsh T.L. Livestock health and disease economics: a scoping review of selected literature // *Front. Vet. Sci.* – 2023. – Vol. 10. – 1168649. doi: 10.3389/fvets.2023.1168649.
4. Karimullina I.G., Yarullin A.I., Mukhammadiev R.S., Mukhammadiev R.S., Sorokina D.A., Khusainova G.I., Gumerov V.G. Selection of conditions for growing bovine herpes virus and bovine viral diarrhea virus on cell cultures // *The Veterinarian*. – 2025. – No 2. – P. 68-76. doi: 10.33632/1998-698X_2025_2_68.
5. Kang D., Lungu S.E., Danso F., Dzou C.F., Chen Y., Zheng X., Nie F., Lin H., Chen J., Zhou G. Animal health and nutrition: metabolic disorders in cattle and improvement strategies // *Front. Vet. Sci.* – 2025. – Vol. 12. – 1470391. doi: 10.3389/fvets.2025.1470391.
6. Karimullina I.G., Yarullin A.I., Mukhammadiev R.S., Mingaleev D.N., Sorokina D.A., Mukhammadiev R.S., Khafizova A.M., Gumerov V.G. Serological monitoring of respiratory and gastrointestinal diseases of the large horned cattle in dairy complexes of the Volga Federal District // *Veterinaria Kubani*. – No 2. – P. 13-15. doi: 10.33861/2071-8020-2025-2-13-16.
7. Petrova O.G., Baranova A.A., Zagorodskikh O.D. System of epizootological surveillance and monitoring of infectious diseases of cattle // *BIO*. – 2023. – No 3 (258). – P. 16-21.
8. Werid G.M., Ibrahim Y.M., Girmay G., Hemmatzadeh F., Miller D., Kirkwood R., Petrovski K. Bovine adenovirus prevalence and its role in bovine respiratory disease complex: A systematic review and meta-analysis // *Vet. J.* – 2025. – Vol. 310. – 106303. doi: 10.1016/j.tvjl.2025.106303.

9. 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. – No 8. – P. 778-809. doi: 10.3390/vetsci12080778.
10. Khammadov N.I., Gorbunova M.E., Salmanova G.R., Fakhrutdinov N.A., Gulyukin A.M., Galeeva A.G., Gromova E.A. Design of specific primers for pcr diagnosis of classical swine fever // The Veterinarian. – 2024. – No 3. – P. 41-46. doi: 10.33632/1998-698X_2024_3_41.
11. Mukhammadiev R.S., Karimullina I.G., Yarullin A.I., Sorokina D.A., Khaertynov K.S., Galeeva A.G., Muhammadiev Rin.S., Khafizova A.M. Purification of antigens from bovine alphaherpesvirus biotype 1 strain TK-A(VIEV)-B2 // Veterinaria Kubani. – 2025. – No 3. – P. 1-7. doi: 10.33861/2071-8020-2025-3-3-7.
12. Dolskiy A.A., Grishchenko I.V., Yudkin D.V. Cell cultures for virology: usability, advantages, and prospects // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21. – No 21. – 7978. doi: 10.3390/ijms21217978.
13. Leland DS, Ginocchio CC. Role of cell culture for virus detection in the age of technology // Clin. Microbiol. Rev. – 2007. – Vol. 20. – No 1. – P. 49-78. doi: 10.1128/CMR.00002-06.
14. Barnewall R.J., Marsh I.B., Quinn J.C. Meta-analysis of qpcr for bovine respiratory disease based on miqe guidelines // Front. Mol. Biosci. – 2022 – Vol. 9. – 902401. doi: 10.3389/fmolb.2022.902401.
15. Wu L., Lin Y., Yin J., Yang C., Jiang Y., Zhai L., Wang Y., Zhu L., Wu Q., Zhang B., Wan C., Zhao W., Yang Y., Shen C., Xiao W. Development of monoclonal antibodies targeting the conserved fragment of hexon protein to detect different serotypes of human adenovirus // Microbiol. Spectr. – 2024 – Vol. 12. – No 4. – e0181623. doi: 10.1128/spectrum.01816-23.
16. Ivaschenko T.A., Romanenko Ya.O., Marin M.A., Kartseva A.S., Silkina M.V., Zeninskaya N.A., She-myakin I.G., Firstova V.V. Evaluation of the efficacy of different adjuvants in producing murine monoclonal antibodies to the receptor-binding domain of the s-protein of SARS-COV-2 // Immunologiya. – 2023. – Vol. 44. – No 4. – P. 481-490. doi:10.33029/1816-2134-2023-44-4-481-490.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

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

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

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 30.09.2025;

© Мухаммадиев Рин. С., Мухаммадиев Риш. С., Каримуллина И. Г., Яруллин А. И., Нестерова И. А., Зайнуллин Л. И., Барышев М. Г. 2025

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 81 – 88
 The Veterinarian. 2025; (5): 81 – 88

Научная статья
 УДК 619:616.98:578.842.1
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_81

КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ И ЛЕНТИВИРУСОВ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ИММУНОДОМИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Рустам Хаметович Равилов¹, доктор ветеринарных наук, профессор, *rustam.ravilov@mail.ru*
 Данил Наильевич Мингалеев², доктор ветеринарных наук, профессор, *damin80@mail.ru*
 Геннадий Сергеевич Фролов³, кандидат сельскохозяйственных наук, *gena_cbx@mail.ru*
 Анатолий Иванович Трубкин⁴, кандидат биологических наук
 Ленар Наильевич Гарипов⁵, первый заместитель министра сельского хозяйства и продовольствия Республики Татарстан, *Garipov.Lenar@tatar.ru*
 Марина Анатольевна Ефимова⁶, доктор биологических наук, *efimova.ma-2005@mail.ru*

^{1,2,3,4,6} Казанский государственный аграрный университет, Институт «Казанская академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», Казань, Российская Федерация

^{2,6} Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация

⁵Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Татарстан, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Геннадий Сергеевич Фролов

Аннотация. Африканская чума свиней (АЧС) – особо опасное вирусное заболевание, наносящее катастрофический экономический ущерб мировому свиноводству. Отсутствие эффективных и безопасных вакцин диктует необходимость разработки инновационных платформ для специфической профилактики, среди которых одними из наиболее перспективных являются вирусные векторы. Целью данного исследования явились конструирование рекомбинантных аденоассоциированных (AAV2) и лентивирусных (LV) векторов, несущих ген *B646L* вируса АЧС, и оценка их функциональности *in vitro*. Для этого кодон-оптимизированная последовательность гена была клонирована в трансферные плазмиды для создания рекомбинантных аденоассоциированных вирусов 2-го серотипа и лентивирусов 3-го поколения. Вирусные частицы были наработаны в клетках AAV293 (AAV2) и HEK293T (LV) путем катионной котрансфекции трансферными и пакующими плазмидами. В ходе работы были получены высокотитражные препараты рекомбинантных rAAV2-B646L и rLV-B646L, подтверждена способность обеих векторных конструкций эффективно трансдукционировать клетки-мишени свиного происхождения (линия SPEV) и обеспечивать стабильную экспрессию зрелого белка p72. Таким образом, описанные вирусные векторы являются перспективными платформами для дальнейшей разработки кандидатных вакцин против АЧС. Полученные результаты открывают возможности для проведения доклинических исследований по оценке их иммуногенности и протективной активности на целевых животных.

Ключевые слова: африканская чума свиней, вирус-векторные вакцины, аденоассоциированный вирус, лентивирус, трансфекция, экспрессия генов

Для цитирования: Равилов Р. Х., Мингалеев Д. Н., Фролов Г. С., Трубкин А. И., Гарипов Л. Н., Ефимова М. А. Конструирование рекомбинантных аденоассоциированных и лентивирусов для экспрессии иммунодоминантных антигенов вируса африканской чумы свиней // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 81 – 88. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_81

CONSTRUCTION OF RECOMBINANT ADENO-ASSOCIATED AND LENTIVIRUSES FOR EXPRESSION OF IMMUNODOMINANT ANTIGENS OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS

Rustam Kh. Ravilov¹, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, *rustam.ravilov@mail.ru*

Danil N. Mingaleev², Doctor of Veterinary Sciences, Professor, *damin80@mail.ru*

Gennady S. Frolov³, Candidate of Agricultural Sciences, *gena_cbx@mail.ru*

Anatoly I. Trubkin⁴, Candidate of Biological Sciences

Lenar N. Garipov⁵, First Deputy Minister of Agriculture and Food of the Republic of Tatarstan,

Garipov.Lenar@tatar.ru

Marina A. Efimova⁶, Doctor of Biological Sciences, *efimova.ma-2005@mail.ru*

^{1,2,3,4,6} Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kazan State Agrarian University», Institute "Kazan Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation

^{2,5} Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

⁵ Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Tatarstan, Russian Federation

Corresponding author: Gennady Sergeevich Frolov.

Abstract. African swine fever (ASF) is a particularly dangerous viral disease, causing catastrophic economic losses to the global pig industry. The lack of effective and safe vaccines necessitates the development of innovative platforms for specific prevention, among which viral vectors are among the most promising. The aim of this study was to construct recombinant adeno-associated (AAV2) and lentiviral (LV) vectors carrying the ASF virus *B646L* gene and evaluate their functionality in vitro. To this end, the codon-optimized gene sequence was cloned into transfer plasmids to create recombinant serotype 2 adeno-associated viruses and third-generation lentiviruses. Viral particles were produced in AAV293 (AAV2) and HEK293T (LV) cells by cationic cotransfection with transfer and packaging plasmids. High-titer preparations of recombinant rAAV2-B646L and rLV-B646L were obtained, and the ability of both vector constructs to effectively transduce porcine target cells (SPEV line) and ensure stable expression of the mature p72 protein was confirmed. Thus, these viral vectors are promising platforms for the further development of candidate ASF vaccines. These results open the possibility of conducting preclinical studies to evaluate their immunogenicity and protective activity in target animals.

Keywords: African swine fever, virus-vector vaccines, adeno-associated virus, lentivirus, transfection, gene expression

Введение. Африканская чума свиней (АЧС) представляет собой одну из наиболее серьезных трансграничных угроз для мирового свиноводства. Вызываемая крупным ДНК-содержащим вирусом семейства *Asfarviridae*, эта инфекция характеризуется практически абсолютной летальностью у домашних свиней и диких кабанов (*Sus scrofa*), нанося колоссальный экономический ущерб отрасли [1]. Сложная структура генома вируса АЧС, кодирующего более 150 белков, многие из которых участвуют в модуляции иммунного ответа, а также отсутствие индукции стойкого протективного иммунитета значительно затрудняют разработку эффективных средств специфической профилактики. На сегодняшний день в мире не существует коммерчески доступной повсеместно одобренной безопасной вакцины против АЧС, что делает поиск новых платформ для конструирования вакцин задачей исключительной актуальности [2].

Традиционные подходы к созданию вакцин в контексте разработки средства профилактики АЧС оказались неэффективными, поскольку инактивированные вакцины не способны вызвать достаточный Т-клеточный иммунный ответ, который играет ключевую роль в защите от данного заболевания [3]. Живые аттенуированные вакцины, полученные путем делеции детерминант вирулентности, демонстрируют определенную протективность, однако их применение сопряжено с серьезными рисками – остаточной вирулентностью, возможностями реверсии к патогенному фенотипу и хронизации инфекции [4]. Эти ограничения заставили мировое научное сообщество прибегнуть к более современным и безопасным подходам, основанным на технологиях генной инженерии.

В этом контексте одним из наиболее перспективных направлений являются вирус-векторные вакцины. Данная стратегия предполагает использование безопасного носителя (вирусного вектора) для доставки в клетки организма-хозяина генетического материала, кодирующего ключевые иммунодоминантные антигены вируса [5]. Такой подход позволяет имитировать естественный патогенез вирусной инфекции, обеспечивая эффективную презентацию антигенов и, как следствие, индукцию мощного гуморального и клеточного иммунитета. Были предприняты попытки применения различных вирусных векторов для создания кандидатных вакцин против АЧС, которые показали способность к экспрессии антигенов и индукции иммунного ответа у лабораторных и целевых животных

[6]. Однако, несмотря на достигнутые успехи, проблема достижения стойкого и полного защитного иммунитета против высоковирулентных изолятов вируса АЧС остается нерешенной.

Особый интерес представляют векторы на основе аденоассоциированных (AAV) и лентивирусов (LV), которые до сих пор недостаточно изучены в контексте разработки вакцин против АЧС [7, 8]. AAV обладают уникальными преимуществами, такими как отсутствие патогенности для человека и животных, способность обеспечивать длительную и стабильную экспрессию трансгена без интеграции в геном хозяина, что минимизирует риски инсерционного мутагенеза [9]. Эти свойства делают AAV-векторы идеальными кандидатами для создания безопасных вакцин, способных формировать долгосрочный иммунитет. LV, в свою очередь, отличаются способностью к трансдукции как делящихся, так и неделящихся клеток, включая антигенпрезентирующие клетки (например, дендритные клетки) [10]. Интеграция генетического материала в геном клетки-хозяина может обеспечить пожизненную экспрессию антигена, что формирует чрезвычайно стойкий Т-клеточный иммунный ответ и иммунологическую память. Использование LV, лишенных генов репликации, представляет собой безопасную платформу для индукции мощного цитотоксического ответа, критически необходимого для элиминации клеток, инфицированных вирусом АЧС. Таким образом, конструирование рекомбинантных AAV и LV, несущих гены иммунодоминантных антигенов вируса АЧС, является перспективной и малоизученной стратегией, которая может позволить преодолеть ограничения существующих подходов.

Целью настоящей работы является конструирование рекомбинантных AAV и LV для экспрессии иммунодоминантных антигенов вируса АЧС на примере гена *B646L*, кодирующего мажорный капсидный белок p72.

Материалы и методы.

Биоинформационный анализ и выбор целевых последовательностей гена B646L. Для оценки вариабельности гена *B646L*, кодирующего основной иммунодоминантный белок p72 вируса АЧС, был проведен биоинформационный анализ на основе более 70 полных нуклеотидных последовательностей гена, принадлежащих репрезентативным штаммам и изолятам вируса АЧС, относящихся к различным генотипам и географическим регионам. Множественное выравнивание последовательностей осуществлялось с использованием алгоритма ClustalW, реализованного в программном пакете MEGA X. Для идентификации консервативных и вариабельных участков гена была построена матрица попарных сравнений и рассчитаны показатели нуклеотидного разнообразия (π). На основе полученных данных был выполнен дизайн консенсусной последовательности гена *B646L*. Для оптимизации экспрессии в клетках млекопитающих последовательность была подвергнута кодонной оптимизации с помощью онлайн-сервиса ExpOptimizer и фланкирована сайтами рестрикции *NdeI* и *XhoI* для направленного клонирования.

Сборка рекомбинантных AAV 2-го серотипа (AAV2). Для создания рекомбинантного AAV2, экспрессирующего ген *B646L*, была использована коммерческая система «AAV Helper-Free System» («Agilent Technologies», США). Синтезированная последовательность была клонирована в плазмидный вектор pAAV-MCS под контроль конститутивного промотора цитомегаловируса (CMV). Клонирование производили методом рестрикции-лигирования по сайтам *NdeI* и *XhoI*. Для продукции вирусных частиц использовали клеточную линию почек эмбриона человека AAV293, культивируемую в среде DMEM с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки и 1 % раствора пенициллина-стрептомицина при 37 °C в 5 % атмосфере CO₂. Клетки AAV293 высевали в культуральные фланконы T-175 и по достижении 70 % конфлюэнтности монослоя проводили котрансфекцию тремя плазмидами: pAAV-B646L (трансферная плазмида), pAAV-RC2 (плазмида, содержащая гены *Rep* и *Cap*), и pHelper (плазмида, содержащая ген *E1* аденоовириуса, необходимый для репликации AAV2). Трансфекцию осуществляли катионным методом при помощи разветвленного полиэтиленимина «PEI 40K» («Servicebio», Китай) в соотношении ДНК: PEI 1:2. Через 72 ч после трансфекции клетки собирали и подвергали трехкратному замораживанию-оттаиванию для высвобождения собранных вирусных частиц.

Очистка rAAV2 и оценка вирусного титра. Полученный клеточный лизат осветляли центрифугированием при 3000 g в течение 15 мин для удаления дебриса. Для очистки вирусных частиц rAAV2-B646L применяли метод ультрацентрифугирования в градиенте плотности йодиксанола. Лизат насылаивали на градиент йодиксанола (15 %, 25 %, 40 %, 60 %) и центрифугировали при 50000 грм в течение 2 ч при 18 °C. Фракцию, соответствующую зоне градиента 40-60 %, содержащую очищенные вирионы, отбирали и подвергали обессоливанию и концентрированию с использованием амиконовых ультрафильтрационных колонок («Amicon Ultra-15», 100 кДа). Титр вирусных геномов (в.ч./мл) определяли методом количественной ПЦР в реальном времени (кПЦР-РВ). Вирусную ДНК

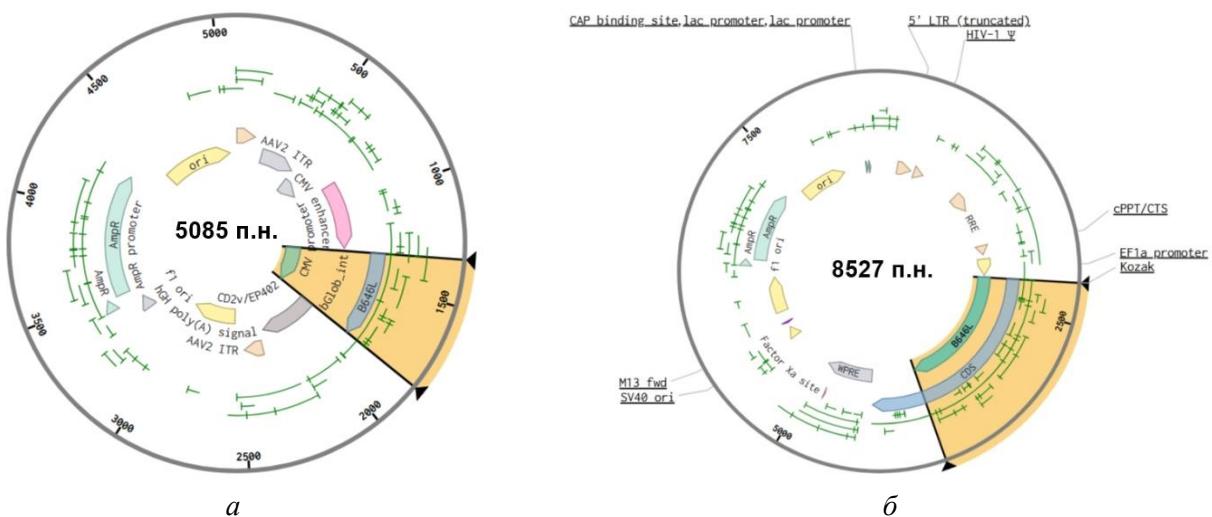
выделяли из очищенного препарата с помощью набора; кПЦР проводили на амплификаторе CFX-96 («Bio-Rad», США) с использованием праймеров и зонда, специфичных к последовательности ITR (инвертированных концевых повторов) AAV2 [11]. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали серийные разведения трансферной плазмида рAAV-B646L с известной концентрацией.

Сборка LV. Для получения лентивирусных частиц, экспрессирующих ген *B646L*, использовали систему LV 3-го поколения. Оптимизированную последовательность гена *B646L* клонировали в трансферную плазмиду pLV-CMV-MCS-EF1-Puro по сайтам рестрикции *NdeI* и *XhoI*; данный вектор обеспечивает экспрессию целевого гена также под контролем CMV-промотора и содержит ген устойчивости к пуромицину для селекции трансдуплицированных клеток. Производство частиц LV-B646L осуществляли путем котрансфекции клеток HEK293T четырьмя плазмидами: трансферной плазмидой и тремя пакующими плазмидами – pMDLg/pRRE (содержит гены *gag* и *pol*), pRSV-Rev (содержит ген *rev*) и pMD2.G (кодирует белок оболочки VSV-G). Трансфекцию проводили аналогично описанной для AAV2. Через 72 ч культуральную среду, содержащую вирусные частицы, собирали, фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм для удаления дебриса и концентрировали методом ультрацентрифугирования при 25000 грм в течение 2 ч. Вирусодержащий осадок ресуспендировали в стерильном фосфатно-солевом буфере (ФСБ). Присутствие целевого гена *B646L* в структуре рекомбинантных AAV и LV устанавливали при помощи ПЦР со специфическими праймерами [12].

Оценка функциональности AAV2-B646L и LV-B646L на клеточной линии SPEV. Для оценки функциональной активности полученных векторов использовали перевиваемую клеточную линию почки эмбриона свиньи SPEV. Для трансдукции клетки высевали в 24-луночные планшеты и по достижении 70 % конфлюэнтности вносили серийные разведения концентрированных препаратов AAV2 и LV в присутствии полибрена (10 мкг/мл) для повышения эффективности. Через 24 ч культуральную среду заменяли на свежую. Через 48 ч после трансдукции в планшеты с клетками, трансдуплированными LV, добавляли селективный антибиотик пуромицин (2 мкг/мл). Клетки культивировали в селективной среде в течение 7-10 сут до полной гибели интактных клеток в контрольной лунке. Эффективность трансдукции оценивали путем подсчета количества выживших пуромицин-устойчивых колоний. Для подтверждения экспрессии целевого белка p72 в стабильно трансдуплированных клетках проводили вестерн-блоттинг с использованием поликлональных антител к вирусу АЧС.

Результаты исследований и их обсуждение. На первом этапе исследований нами были созданы рекомбинантные трансферные плазмида pAAV-MCS и pLVT, куда по сайтам рестрикции *NdeI* и *XhoI* был клонирован синтетический ген *B646L*. Идентичность конструкций была подтверждена секвенированием по Сэнгеру, после чего они были использованы для сборки вирусных частиц. Физические карты полученных трансферных плазмид представлены на рисунке 1.

Рисунок 1 – Физические карты трансферных плазмид: а – pAAV-MCS/B646L, б – pLVT-1/B646L. Желтым сектором обозначена целевая вставка



Для достижения максимальной эффективности доставки генетического материала в клетки свиного происхождения (перевиваемая линия SPEV) были оптимизированы ключевые параметры трансдукции для обоих типов векторов: множественность инфицирования (MOI) для гAAV2-B646L и дополнительно – концентрацию полибрена гLV-B646L. Для гAAV2 клетки SPEV трансдудировали при различных MOI (количество вирусных геномов на клетку): 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 . Оценку уровней экспрессии трансгенов проводили через 72 ч методом кПЦР-РВ по уровню специфических матричных РНК (мРНК) гена *B646L*, а также по доле флуоресцирующих клеток при постановке реакции иммунофлуоресценции (РИФ) трансдудированных монослоев. Было установлено, что экспрессия гена демонстрирует дозозависимый характер: значимое увеличение уровней транскрипции наблюдалось при MOI 1×10^4 в.ч. на клетку. Дальнейшее повышение MOI до 5×10^4 в.ч. на клетку приводило к выходу уровней мРНК на плато, а при повышении до 5×10^5 в.ч. на клетку – к незначительному снижению, предположительно связанному с цитотоксическими эффектами. Таким образом, в качестве оптимальной для дальнейших экспериментов была выбрана MOI, равная 5×10^4 в.ч. на клетку.

При трансдукции лентивирусным вектором гLV-B646L первоначально был оценен параметр MOI, который исследовали в диапазоне 5, 10, 20, 50, 100, 200 в.ч. на клетку. Было установлено, что оптимальной является MOI 50, что выражалось в максимальной интенсивности специфической флуоресценции при постановке РИФ. Более высокие значения MOI не приводили к увеличению эффективности трансдукции. Дополнительно оценивали влияние катионного полимера полибрена, который нейтрализует отрицательный заряд клеточной мембраны и вириона, способствуя их сближению. Клетки SPEV трансдудировали гLV-B646L в присутствии различных концентраций полибрена (2, 4, 8, 10, 12 мкг/мл). Было установлено, что в отсутствие полибрена эффективность трансдукции была минимальной; максимальная эффективность наблюдалась при концентрации полибрена 8 мкг/мл). Дальнейшая эскалация дозы до 12 мкг/мл и более вызывало признаки цитотоксичности. Зависимость эффективности трансдукции от вышеуказанных параметров отражена на рис. 2.

Рисунок 2 – Эффективность трансдукции клеточной линии SPEV рекомбинантными AAV2 и LV, несущими ген *B646L* вируса АЧС: *а* – рекомбинантными AAV2 при различных MOI, *б* – рекомбинантными LV при различных MOI, *в* – рекомбинантными LV при различных концентрациях полибрена

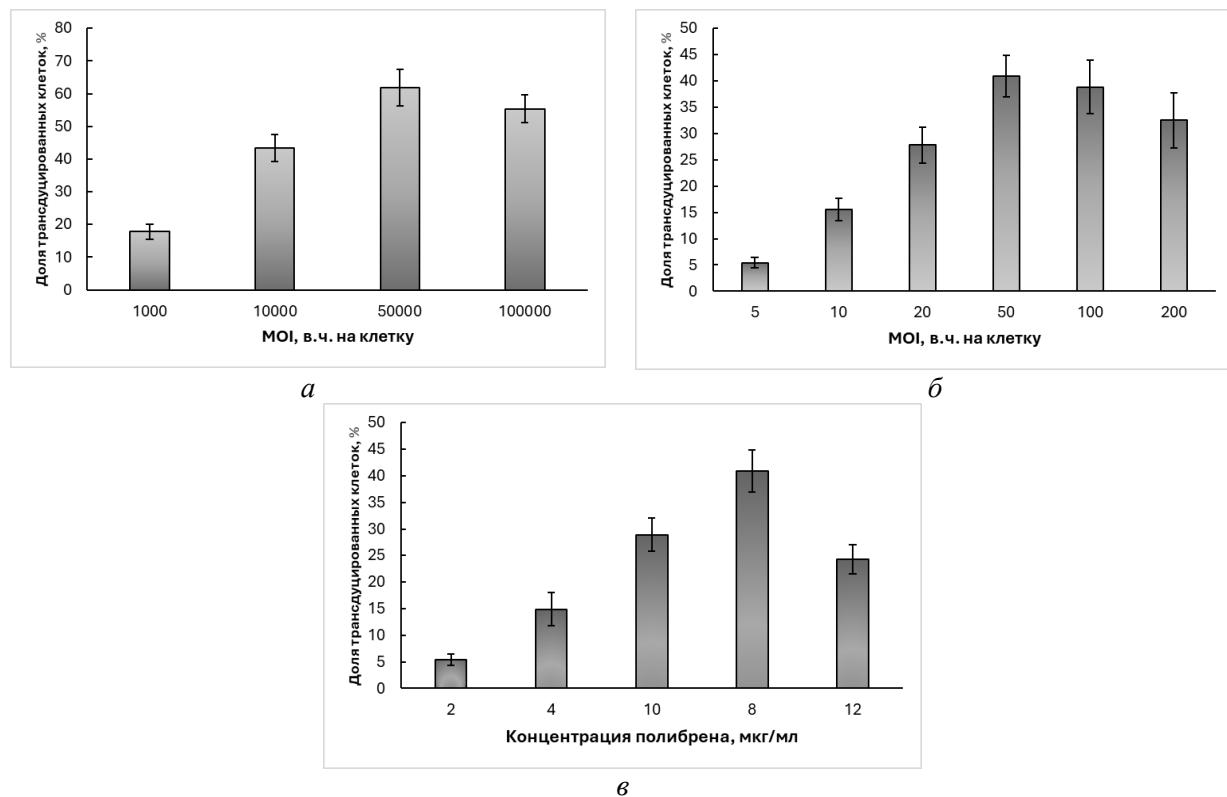
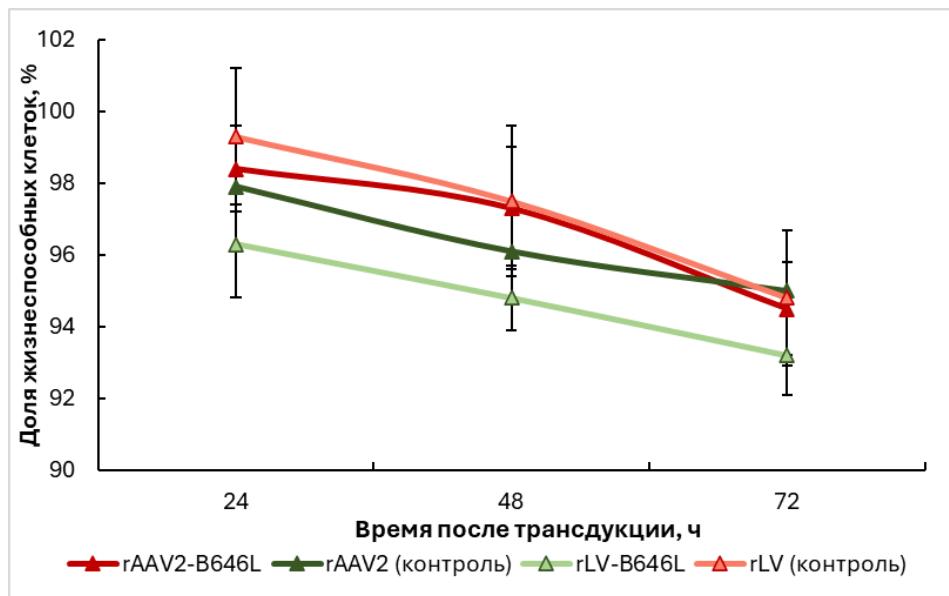


Рисунок 2 демонстрирует, что наибольшая эффективность трансдукции для AAV2 составила $(61,9 \pm 5,6) \%$, для LV – $(40,9 \pm 3,9) \%$.

Для подтверждения безопасности сконструированных векторов была проведена оценка их влияния на жизнеспособность клеток SPEV методом метилтетразолиевого теста (МТТ). Клетки трансдудировали rAAV2-B646L и rLV-B646L в вышеописанных режимах, а также контрольными векторами, не несущими специфической вставки. Жизнеспособность клеток оценивали через 24, 48 и 72 ч после трансдукции (рис. 3).

Рисунок 3 – Результаты оценки жизнеспособности клеток SPEV в течение 72 ч после трансдукции рекомбинантными AAV2 и LV



Результаты показали, что ни один из векторов в рабочих концентрациях не оказывал значимого цитотоксического воздействия на клетки SPEV. Жизнеспособность клеток, трансдудированных rAAV2-B646L и rLV-B646L, через 72 ч составила не менее 94,8 % и 93,2 %, соответственно. Эти показатели не имели статистически значимых отличий от клеток, обработанных контрольными векторами (не содержащими вставку), что свидетельствует о низкой цитотоксичности разработанных конструкций и их пригодности для дальнейшего применения.

Эффективность трансдукции – это ключевой показатель, определяющий долю клеток в популяции, успешно реципиентировавших и экспрессирующих целевой ген. Окончательным этапом оценки функциональности векторных конструкций явилась оценка их способности обеспечивать синтез полноразмерного и специфичного белка p72 – продукта гена *B646L*. Для этого клеточные лизаты, полученные из клеток SPEV через 72 ч после трансдукции rAAV2-B646L и rLV-B646L, были проанализированы методом вестерн-блоттинга. В качестве отрицательного контроля использовали лизат нетрансдудированных клеток.

Вестерн-блоттинг с применением поликлональных антител к вирусу АЧС выявил в образцах трансдудированных клеток мажорную антигенную фракцию молекулярной массой приблизительно 72 кДа. В лизате нетрансдудированных клеток аналогичная фракция отсутствовала. Денситометрический анализ блотограммы показал, что уровень экспрессии белка p72 в клетках, трансдудированных rAAV2-B646L, был выше, чем в клетках, трансдудированных rLV-B646L, что коррелирует с вышеизложенными данными по эффективности трансдукции. Результаты доказывают, что обе векторные системы функционально активны: они обеспечивают эффективный синтез целевого антигена *in vitro*, при этом рекомбинантный белок обладает корректной молекулярной массой и проявляет реактивность в отношении специфической антисыворотки.

Заключение. Проблема отсутствия эффективной и безопасной вакцины против АЧС остается одним из наиболее острых вызовов для ветеринарной биотехнологии. Существующие ограничения традиционных вакцинальных подходов диктуют необходимость поиска и разработки инновационных технологических платформ. В настоящем исследовании была предпринята попытка конструирования и апробации вирусных векторов нового поколения на основе аденоассоциированных (AAV) и лентивирусов (LV) для экспрессии ключевого иммунодоминантного антигена вируса АЧС.

В ходе выполнения работы была оптимизирована кодирующая последовательность гена B646L, на основе чего были созданы рекомбинантные вирусные частицы – rAAV2-B646L и rLV-

B646L. Было показано, что обе векторные конструкции способны эффективно трансдукцировать клетки-мишени свиного происхождения (линия SPEV) и обеспечивать стабильную экспрессию белка p72. Это доказывает принципиальную возможность использования разработанных векторов для доставки антигенного материала в клетки организма-хозяина.

Полученные результаты являются фундаментальным этапом на пути к созданию генно-инженерной вакцины против АЧС. Описанные рекомбинантные вирусные векторы представляют собой кандидатные препараты для доклинических испытаний. Перспективы дальнейшей работы включают оценку иммуногенности разработанных векторов на лабораторных и целевых животных (свиньях). Успешное решение этих задач позволит создать методическую основу для разработки принципиально нового, безопасного и эффективного средства профилактики АЧС.

Финансирование исследования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, проект № 1022071200257-9-4.3.1 «Получение и изучение свойств аденоассоциированных векторов, несущих иммунодоминантные гены вируса африканской чумы свиней».

Список источников

1. A Systematic Literature Review of Variables Associated with the Occurrence of African Swine Fever / S. Dhollander, E. Chinchio, S. Tampach, et al. // Viruses. – 2025. – 17(2):192. DOI: 10.3390/v17020192.
2. Zhang H, Zhao S, Zhang H, Qin Z, Shan H, Cai X. Vaccines for African swine fever: an update / H. Zhang, S. Zhao, H. Zhang, et al. // Front Microbiol. – 2024. – 15: 1529175. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1529175.
3. Current efforts towards safe and effective live attenuated vaccines against African swine fever: challenges and prospects / T. Wang, R. Luo, Y. Sun, H.J. Qiu // Infect Dis Poverty. – 2021. – 10(1):137. DOI: 10.1186/s40249-021-00920-6.
4. Attenuated African swine fever viruses and the live vaccine candidates: a comprehensive review / J. Fan, H. Yu, F. Miao, et al. // Microbiol Spectr. – 2024. – 12(11):e0319923. DOI: 10.1128/spectrum.03199-23.
5. Viral Vector Vaccines Against ASF: Problems and Prospectives / R.K. Ravilov, A.A. Rizvanov, D.N. Mingaleev, et al. // Front. Vet. Sci. – 2022. – 9: 830244. DOI: 10.3389/fvets.2022.830244.
6. Bosch-Camós L López E Rodriguez F. African swine fever vaccines: a promising work still in progress / L. Bosch-Camós, E. Lopez, F. Rodriguez // Porc Health Manag. – 2020. – 6:17. – 32626597. DOI: 10.1186/s40813-020-00154-2.
7. Ravilov R, Galeeva A, Frolov G, Efimova M, Zakirova E, Rizvanov A, Hisamutdinov A, Garipov L, Mingaleev D. Efficient delivery of the immunodominant genes of African swine fever virus by adeno-associated virus serotype 2 / R. Ravilov, A. Galeeva, G. Frolov, et al. // Vet World. – 2023. – 16(12): 2425-2430. DOI: 10.14202/vetworld.2023.2425-2430.
8. Novel Epitopes Mapping of AfricanSwine Fever Virus CP312R ProteinUsing Monoclonal Antibodies / Y.T. Hagoss, D. Shen, Z, Zhang, et al. // Viruses. – 2023. – 15: 557. DOI: 10.3390/v15020557.
9. Adeno-associated virus as a delivery vector for gene therapy of human diseases / J.H. Wang, D.J. Gessler, W. Zhan, et al. // Signal Transduct Target Ther. – 2024. – 9(1):78. DOI: 10.1038/s41392-024-01780-w.
10. Cockrell, A.S. Gene delivery by lentivirus vectors / A.S. Cockrell, T. Kafri // Mol Biotechnol. – 2007. – 36(3):184-204. DOI: 10.1007/s12033-007-0010-8.
11. Функциональная оценка *in vivo* рекомбинантных аденоассоциированных вирусов, несущих гены протективно значимых антигенов вируса африканской чумы свиней / А.Г. Галеева, М.А. Ефимова, Г.С. Фролов и др. // Аграрная наука. – 2024. – № 6. – С. 39-43. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-383-6-39-43.
12. Подбор праймеров и зонда для амплификации участка гена B646L вируса АЧС / Г.С. Фролов, Е.В. Канашкина, Р.Х. Равилов и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2023. – Т. 255, № 3. – С. 350-355. DOI: 10.31588/2413_4201_1883_2_255_350.

References

1. A Systematic Literature Review of Variables Associated with the Occurrence of African Swine Fever / S. Dhollander, E. Chinchio, S. Tampach, et al. // Viruses. – 2025. – 17(2):192. DOI: 10.3390/v17020192.
2. Zhang H, Zhao S, Zhang H, Qin Z, Shan H, Cai X. Vaccines for African swine fever: an update / H. Zhang, S. Zhao, H. Zhang, et al. // Front Microbiol. – 2024. – 15: 1529175. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1529175.
3. Current efforts towards safe and effective live attenuated vaccines against African swine fever: challenges and prospects / T. Wang, R. Luo, Y. Sun, H.J. Qiu // Infect Dis Poverty. – 2021. – 10(1):137. DOI: 10.1186/s40249-021-00920-6.
4. Attenuated African swine fever viruses and the live vaccine candidates: a comprehensive review / J. Fan, H. Yu, F. Miao, et al. // Microbiol Spectr. – 2024. – 12(11):e0319923. DOI: 10.1128/spectrum.03199-23.
5. Viral Vector Vaccines Against ASF: Problems and Prospectives / R.K. Ravilov, A.A. Rizvanov, D.N. Mingaleev, et al. // Front. Vet. Sci. – 2022. – 9: 830244. DOI: 10.3389/fvets.2022.830244.
6. Bosch-Camós L López E Rodriguez F. African swine fever vaccines: a promising work still in progress / L. Bosch-Camós, E. Lopez, F. Rodriguez // Porc Health Manag. – 2020. – 6:17. – 32626597. DOI: 10.1186/s40813-020-00154-2.
7. Ravilov R, Galeeva A, Frolov G, Efimova M, Zakirova E, Rizvanov A, Hisamutdinov A, Garipov L, Mingaleev D. Efficient delivery of the immunodominant genes of African swine fever virus by adeno-associated virus serotype 2 / R. Ravilov, A. Galeeva, G. Frolov, et al. // Vet World. – 2023. – 16(12): 2425-2430. DOI: 10.14202/vetworld.2023.2425-2430.
8. Novel Epitopes Mapping of African Swine Fever Virus CP312R Protein Using Monoclonal Antibodies / Y.T. Hagoss, D. Shen, Z. Zhang, et al. // Viruses. – 2023. – 15: 557. DOI: 10.3390/v15020557.
9. Adeno-associated virus as a delivery vector for gene therapy of human diseases / J.H. Wang, D.J. Gessler, W. Zhan, et al. // Signal Transduct Target Ther. – 2024. – 9(1):78. DOI: 10.1038/s41392-024-01780-w.
10. Cockrell, A.S. Gene delivery by lentivirus vectors / A.S. Cockrell, T. Kafri // Mol Biotechnol. – 2007. – 36(3):184-204. DOI: 10.1007/s12033-007-0010-8.
11. Functional evaluation in vivo of recombinant adenovirus-associated viruses carrying genes for protective antigens of African swine fever virus / A.G. Galeeva, M.A. Efimova, G.S. Frolov, et al. // Agrarian Science. – 2024. – No. 6. – Pp. 39-43. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-383-6-39-43.
12. Selection of primers and a probe for amplification of the B646L gene region of the African swine fever virus / G.S. Frolov, E.V. Kanashkina, R.Kh. Ravilov, et al. // Scientific Notes of the N.E. Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine. – 2023. – Vol. 255, No. 3. – Pp. 350-355. DOI: 10.31588/2413_4201_1883_2_255_350.

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 09.10.2025;

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 89 – 94
 The Veterinarian. 2025; (5): 89 – 94

Научная статья
 УДК 619:616.98:579.842.13.
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_89

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *E. COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ЭШЕРИХИОЗОМ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ

Геннадий Николаевич Спиридонов, доктор биологических наук, *spiridonovkzn57@gmail.com*
 Айдар Фаритович Махмутов, кандидат биологических наук, *Makhmutov.aidar@bk.ru*
 Антон Геннадьевич Спиридонов, кандидат биологических наук, *rmrt.kzn@gmail.com*
 Альбина Александровна Саматова, *albinasamatova27@gmail.com*
 Динар Дамирович Насертидинов, кандидат ветеринарных наук, *dinar0000111@gmail.com*
 Лилия Шамилевна Дуплева, кандидат биологических наук, *dupleva.lilya@mail.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Геннадий Николаевич Спиридонов.

Аннотация. Представлены данные исследований биологических свойств 960 изолятов *E. coli*, выделенных от больных желудочно-кишечными заболеваниями телят и поросят. Установлено, что все они обладают типичными культурально-морфологическими и биохимическими свойствами, характерными для этих видов микроорганизмов. 83,21 % изолятов *E. coli*, выделенные от больных и павших телят, патогенны для лабораторных животных. 304 (71,8 %) изолятов положительно реагировали с комплексной антиадгезивной колисывороткой, из них 176 (57 %) изолятов с антиадгезивной сывороткой A20, 119 (39,2 %) изолятов – K99, 9 (2,9 %) изолятов – F41. Агглютинировались одновременно с антиадгезивными сыворотками A20 и K99 37 (12,2 %) изолятов. 67,2 % изолятов *E. coli* из 116 изученных обладали энтеротоксигенными свойствами. 79,9 % выделенных от поросят изолятов *E. coli* оказались патогенными для лабораторных животных, 74,1 % продуцировали адгезивные антигены, из них 57,0 % адгезивный антиген K88, 27,1 % – K99, 12,8 % – 987P и 3,0 % – F41. 50,1 % изолятов вырабатывали гемолизин. 91 изолят из 129 изученных продуцировали энтеротоксин.

Ключевые слова: телята, поросята, эшерихиоз, *E. coli*, биологические свойства

Для цитирования: Спиридонов Г. Н., Махмутов А. Ф., Спиридонов А. Г., Саматова А. А., Насертидинов Д. Д., Дуплева Л. Ш. Изучение биологических свойств *E. coli*, выделенных от больных эшерихиозом молодняка крупного рогатого скота и свиней // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 89 – 94. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_89

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF *E. COLI* SALTS ISOLATED FROM YOUNG CATTLE AND PIGS INFECTED WITH ESCHERICHIOSIS

Gennady N. Spiridonov, doctor of biological sciences, *spiridonovkzn57@gmail.com*
 Aidar F. Makhmutov, candidate of biological sciences, *Makhmutov.aidar@bk.ru*
 Anton G. Spiridonov, candidate of biological sciences, *rmrt.kzn@gmail.com*
 Albina A. Samatova, *albinasamatova27@gmail.com*
 Dinar D. Nasertdinov, candidate of veterinary sciences, *dinar0000111@gmail.com*
 Lilia Sh. Dupleva, candidate of biological sciences, *dupleva.lilya@mail.ru*

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

Corresponding author: Gennady Nikolaevich Spiridonov.

Abstract. The paper presents the results of studies of the biological properties of 960 isolates of *E. coli* bacteria isolated from calves and piglets with gastrointestinal diseases. It was found that they all had typical cultural, morphological and biochemical properties that typical for these types of microorganisms. 83,21

% of *E. coli* isolates isolated from sick and dead calves are pathogenic for laboratory animals. 304 (71,8 %) isolates reacted positively with complex antiadhesive coliserum, of which 176 (57 %) isolates with antiadhesive serum A20, 119 (39,2 %) isolates with K99, 9 (2,9 %) isolates with F41. 37 (12,2 %) isolates were agglutinated simultaneously with antiadhesive sera A20 and K99. 67,2 % of the 116 studied *E. coli* isolates had enterotoxigenic properties. 79,9 % of *E. coli* isolates isolated from piglets turned out to be pathogenic for laboratory animals, 74,1 % produced adhesive antigens, of which 57,0 % were adhesive antigen K88, 27,1 % – K99, 12,8 % – 987P and 3,0 % – F41. 50,1 % of the isolates produced hemolysin. 91 of the 129 studied isolates produced enterotoxin.

Keywords: calves, piglets, escherichiosis, *E. coli*, biological properties

Введение. Бактерии *Escherichia coli* (*E. coli*) представляют собой одну из самых известных и изученных групп микроорганизмов. Эти бактерии встречаются в различных средах и играют важную роль в жизни человека и животных. Бактерии *E. coli* были впервые описаны в 1885 году немецким бактериологом Теодором Эшерихом. С тех пор они стали объектом многочисленных исследований, в результате которых было установлено, что они широко варьируют по своей патогенности и метаболическим способностям. *E. coli* можно классифицировать на два основных типа: непатогенные и патогенные. Первые являются частью нормальной микрофлоры кишечника и не вызывают заболеваний. Патогенные штаммы, наоборот, могут вызвать инфекционные заболевания. Эти микроорганизмы, обладая различными культурально-морфологическими свойствами, проявляют значительное разнообразие в своей патогенности и антигенной структуре.

Культурально эшерихии характеризуются грамнегативными, палочковидными формами. При выращивании на селективных средах можно выделить различные биовары, что позволяет проводить дальнейшую дифференцировку по критериям ферментации углеводов и образованию специфических токсинов. Морфологическое исследование также демонстрирует наличие жгутиков и капсул, что является важным фактором патогенности [1].

Иммунобиологические свойства *E. coli* определяются ее поверхностными структурами, такими как липополисахарид (ЛПС), жгутики и пили, которые распознаются иммунной системой хозяина. ЛПС, также известный как эндотоксин, является мощным иммуностимулятором, способным активировать клетки врожденного иммунитета, такие как макрофаги и дендритные клетки, через TLR4 рецептор. Эта активация приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов, которые инициируют воспалительный ответ. *E. coli* могут вызывать сепсис, диарею и другие патологические состояния, что связано с продукцией веротоксинов и термолабильных антигенов. Иммунный ответ организма телят на инфекцию включает выработку специфических антител и активацию клеточного иммунитета, что способствует формированию защищенности [2].

Важными факторами патогенности *E. coli* являются:

- пили (фимбрии) – это тонкие, нитевидные структуры, которые выступают из поверхности бактериальной клетки. Пили позволяют бактериям прикрепляться к клеткам хозяина. Некоторые типы пили, например, пили типа 1 и Р-пили, играют важную роль в патогенезе инфекций мочевыводящих путей, обеспечивая адгезию *E. coli* к уроэпителиальным клеткам.

- агглютинины – белки, которые могут связываться с клетками эпителия и другими структурами организма хозяина. Они играют важную роль в адгезии и колонизации.

- капсулы: некоторые штаммы *E. coli* образуют капсулные полисахариды, которые могут способствовать адгезии и защищать бактерии от иммунного ответа.

- секретируемые белки: энтеропатогенные штаммы *E. coli* могут выделять белки, которые способствуют адгезии к клеткам хозяина или помогают бактериям уклоняться от иммунного ответа.

В ответ на инфекцию *E. coli* активируется как врожденный, так и адаптивный иммунитет. Врожденный иммунитет обеспечивает немедленную защиту, а адаптивный иммунитет развивается со временем и обеспечивает более специфический и длительный иммунный ответ. Антитела, вырабатываемые В-лимфоцитами, могут нейтрализовать бактерии, опсонизировать их для фагоцитоза и активировать комплемент. Т-лимфоциты, в частности CD4+ и CD8+ Т-клетки, играют важную роль в уничтожении инфицированных клеток и регуляции иммунного ответа [3].

E. coli являются условно патогенными микроорганизмами с хорошо выраженным свойствами изменчивости. При снижении естественной устойчивости новорожденных животных, в результате неполноценного кормления и ненадлежащего содержания маток в период беременности, бактерии приобретают патогенные свойства и усиливают вирулентность путем последующих пассажей. Неполноценное по своему составу молозиво и пониженная жизнеспособность новорожденного животного способствует развитию эшерихиоза с последующим размножением возбудителя болезни в

кишечнике и проникновением их лимфогенным путем в кровь. Размножение бактерий в крови приводит к состоянию тяжелой интоксикации и сепсису. Для лечения и профилактики болезни широко применяются химиотерапевтические препараты, но массовое применение их, отсутствие системы ротации лечебных препаратов различных классов приводят к формированию устойчивости *E. coli* к антибиотикам вплоть до полной резистентности [4-5].

E. coli разделяются на 3 группы: энтеротоксигенные, энтеропатогенные и энteroинвазивные. Энтеротоксигенные штаммы при размножении синтезируют термостабильные и термолабильные энтеротоксины, представляющие собой функционально активные белки, оказывающие энтеротоксический эффект на клетки желудочно-кишечного тракта. Энteroинвазивные штаммы обладают способностью синтезировать адгезивные антигены K88, K99, A20, 987P, F41, с помощью которых они колонизируют слизистые оболочки тонкого и толстого отделов кишечника путем прикрепления к ворсинками слизистой кишечника. [6-8]. По данным Тищенко А.С. патогенный потенциал у *E. coli* в 83,1 % состоит из адгезинов, при этом у 31,5 % они представлены общими пилями, количество гемолитических штаммов составило 42,7 %. У 61,8 % патогенных изолятов *E. coli*, выделенных от телят, и у 64,2 %, изолированных от поросят, обнаружили фимбриальные факторы адгезии. При этом у 52,4 % адгезинпозитивных изолятов, полученных от телят, адгезины были представлены фимбриями I типа, в большинстве случаев это были антигены A20 (39,7 %) и K99 (25,0 %). У 48,8 % изолятов, полученных от поросят, адгезины были представлены фимбриями II типа, чаще всего K88 (43,3 %) и 987P (19,4 %) [9].

Следовательно, изучение культурально-морфологических и иммунобиологических свойств эшерихий важно для разработки эффективных методов борьбы с эшерихиозом животных.

Целью настоящих исследований явилось изучение биологических свойств *E. coli*, выделенных от новорожденных телят и поросят в Приволжском федеральном округе.

Материалы и методы. Выделение изолятов *E. coli* из патологического материала (кусочки паренхиматозных органов, содержимое тонкого и толстого отделов кишечника, фекалии) и изучение их свойств проводили с использованием искусственных питательных сред: Эндо, ГРМ-агар, ГРМ-агар с 5 %-ным содержанием эритроцитов барана, ГРМ-бульон, среда Гисса. Серологические свойства эшерихий изучали с использованием сывороток «О»-coli агглютинирующих и сывороток агглютинирующих эшерихиозных к адгезивным антигенам K88, K99, 987P, F41, изготовленных ФКП «Армавирская биофабрика» из сыворотки крови клинически здоровых кроликов.

Иммунобиологическому исследованию подверглись изоляты *E. coli*, выделенные из патологического материала от телят и поросят, больных диареей.

Проводили изучение *E. coli*, выделенных от больных желудочно-кишечными заболеваниями телят и поросят, в 57 сельскохозяйственных предприятиях, расположенных в республиках Татарстан, Чувашия, Марий Эл, а также в Самарской, Кировской, Нижегородской и Ульяновской областях.

Исследования биологических свойств бактерий *E. coli* проводили в соответствии с Методическими указаниями по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных [1].

Определение патогенности и энтеротоксигенных свойств, выделенных изолятов *E. coli*, проводили на беспородных белых мышах путем внутрибрюшинного введения суточной агаровой культуры.

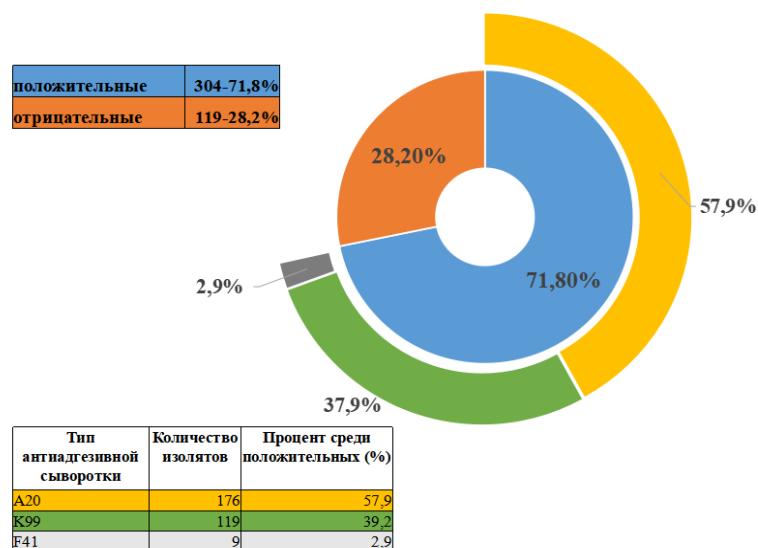
Индикацию устойчивости изолятов к химиотерапевтическим препаратам проводили при помощи индикаторных дисков ДИ-ПЛС-50-01.

Результаты исследований и их обсуждение. Изучили биологические свойства 423 изолятов *E. coli*, выделенных из патологического материала от больных и павших телят, 537 изолятов – от поросят. При этом установили, что все они обладают идентичными культуральными и морфологическими свойствами, характерными для этих видов микроорганизмов.

Из 423 изолятов *E. coli*, выделенных от телят, все окрашивались по Граму отрицательно, не обладали гемолитическими свойствами. 304 изолят (71,8 %) давали положительную реакцию с комплексной антиадгезивной колисывороткой, из них 176 (57,9 %) с антиадгезивной колисывороткой A20, 119 (39,2 %) – с антиадгезивной колисывороткой K99, 9 (2,9 %) – антиадгезивной колисывороткой F41 (рис.1). 37 изолятов *E. coli* (12,2 %) одновременно агглютинировались с антиадгезивными сыворотками A20 и K99.

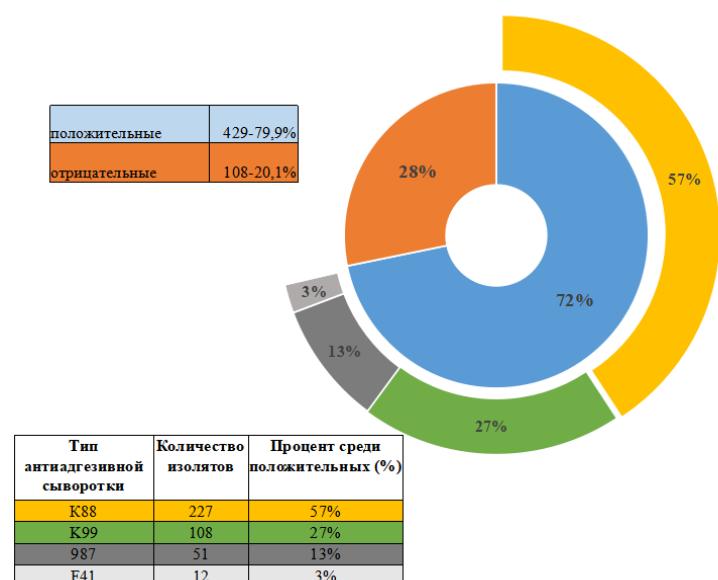
При исследовании вирулентности на лабораторных животных установили патогенность у 352 свежевыделенных изолятов из 423, что составляет 83,21 %. Проводили изучение энтеротоксигенных свойств у 116 изолятов методом отека лап по Вартаняну Ю.П. на белых мышах. При этом энтеротоксигенными признали 78 (67,2 %) изолятов.

Рисунок 1 – Результаты серологических свойств эшерихий, выделенных из патологического материала телят



При изучении биологических свойств 537 изолятов *E. coli*, выделенных от больных и павших поросят, получили следующие результаты. Все изоляты *E. coli* окрашивались по Граму отрицательно, 429 (79,9 %) изолятов были патогенны для лабораторных животных (белые мыши). С помощью серологических исследований с использованием комплексной антиадгезивной колисыворотки было установлено, что 398 изолятов (74,1 %) продуцировали различные адгезивные антигены, а именно 227 изолятов (57,0 %) адгезивный антиген K88, 108 изолятов (27,1 %) – адгезивный антиген K99, 51 изолят (12,8 %) – адгезивный антиген 987P, 12 изолятов (3,0 %) – адгезивный антиген F41 (рис.2). 269 изолятов (50,1 %) обладали гемолитической активностью, вызывали гемолиз эритроцитов барана в кровяном ГРМ-агаре. При изучении биологической активности токсинов, вырабатываемых эшерихиями в жидких питательных средах, установлено, что 70,5 % изолятов *E. coli* синтезируют энтеротоксины, то есть обладают энтеротоксигенными свойствами.

Рисунок 2 – Результаты серологических свойств эшерихий, выделенных из патологического материала поросят



Проводили серотипизацию выделенных изолятов *E. coli* с использованием агглютинирующих О-коли сывороток. При этом наиболее часто обнаруживались следующие серотипы: 08, 09, 015, 018, 020, 086, 0115, 0119, 0128, 0136, 0148.

E. coli легко муттирует, что позволяет ей адаптироваться к новым условиям и развивать устойчивость к антибиотикам. Определение чувствительности выделенных изолятов *E. coli* проводили к следующим антимикробным препаратам – ципрофлоксацину, стрептомицину, гентамицину, оксациллину, амоксициллину, тетрациклину, доксициклину, цефтриаксону, полимиксину, бензилпенициллину, цефазолину, ампициллину, неомицину, нистатину, линкомицину, эритромицину, азитромицину, офлоксацину, левомицетину, тилозину, моксифлоксацину, канамицину, байтрилу, гентаму, респолу, септогелю, мастилексу, комбимасту, энрофлоксацину. При этом установили, что изоляты *E. coli*, выделенные из патологического материала больных и павших животных с признаками поражения пищеварительной системы, были чувствительны к стрептомицину, гентамицину, байтрилу, гентаму, энрофлоксацину, цефазолину, респолу; малочувствительны к неомицину, ципрофлоксацину, канамицину, азитромицину, офлоксацину, левомицетину, тилозину, моксифлоксацину, мастилексу, комбимасту; резистентны к бензилпенициллину, тетрациклину, линкомицину, рифампицину, оксациллину и доксициклину.

Из изученных изолятов *E. coli* нами отобраны наиболее вирулентные штаммы: «ПЛ-6» – синтезирующий адгезивный антиген K88, выделенный из тонкого отдела кишечника павшего новорожденного поросенка; «УК-2» – синтезирующий адгезивный антиген 987Р, выделенный из тонкого отдела кишечника павшего новорожденного поросенка; «КВ-1» – синтезирующий адгезивный антиген K99, выделенный из тонкого отдела кишечника павшего новорожденного теленка; «ПЗ-2» – синтезирующий адгезивный антиген A20, выделенный из тонкого отдела кишечника павшего новорожденного теленка. Провели депонирование их в отделе - Государственная коллекция микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Данные штаммы в дальнейшем будут использоваться при изготовлении биологических препаратов.

Заключение. Проведено выделение и изучение биологических свойств 960 изолятов бактерий *E. coli*, выделенных от больных, павших телят и поросят. Установлено, что все они обладают идентичными культуральными и морфологическими свойствами, характерными для этих видов микроорганизмов. Также установлено, что 83,21 % изолятов *E. coli*, выделенные от больных и павших телят, были патогенны для лабораторных животных. 304 (71,8 %) изолятов положительно реагировали с комплексной антиадгезивной колисывороткой, из них 176 (57 %) изолятов с антиадгезивной сывороткой A20, 119 (39,2 %) изолятов – K99, 9 (2,9 %) изолятов – F41. Агглютинировались одновременно с антиадгезивными сыворотками A20 и K99 37 (12,2 %) изолятов. 67,2 % изолятов *E. coli* из 116 изученных обладали энтеротоксигенными свойствами.

При изучении патогенных свойств *E. coli*, выделенных от больных и павших поросят, установили, что 79,9 % эпизоотических изолятов были патогенны для лабораторных животных, из них 74,1 % продуцировали адгезивные антигены, в том числе 57,0 % адгезивный антиген K88, 27,1 % – адгезивный антиген K99, 12,8 % – адгезивный антиген 987Р и 3,0 % – адгезивный антиген F41. 50,1 % изолятов обладали гемолитическими свойствами. 91 изолят из 129 изученных вырабатывал энтеротоксин. Изоляты *E. coli* оказались чувствительны к таким лечебным препаратам, как стрептомицин, гентамицин, цефазолин, байтрил, энрофлоксацин, гентам и респол и цефтриаксон.

Список источников

1. Методические указания по бактериальной диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных. – М.: Стандартинформ. – 2000. – 17 с.
2. Тищенко, А. С. Распространение возбудителя эшерихиоза среди телят и поросят в Краснодарском крае / А. С. Тищенко // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2024. – Т. 257. – № 1. – С. 244-250.
3. Тугаринов, О. А. Колибактериоз телят и поросят // Справочник: Инфекционные болезни животных – М. «Агропромиздат». 1987. – С. 14-16.
4. Моторыгин, А. В. Этиологическая структура эшерихиоза молодняка сельскохозяйственных животных / А. В. Моторыгин, Д. А. Блюменкранц, И. И. Тарасова // Материалы Международной научно – практической конференции, посвящённой 100-летию Орловской биофабрики: «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК». – М., 2019. – С. 177-186.

5. Семенов, В. Г. Иммунная защита телят в зависимости от качества молозива / В. Г. Семенов, Е. П. Симурзина, Д. А. Никитин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 2. – С. 33-40.
6. Арбузова, А. А. Этиологические аспекты возникновения желудочно-кишечных заболеваний телят раннего постнатального периода / А. А. Арбузова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010. – Т. 200. – С. 11-18.
7. Махмутов, А. Ф. Применение ассоциированной вакцины и гипериммунной сыворотки при смешанной форме инфекционной диареи новорожденных поросят / А. Ф. Махмутов, А. Г. Спиридовон, Г. Н. Спиридовон // Ветеринарный врач. – 2021. – № 1. – С. 30-37.
8. Хурамшина, М. Т. Распространение желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят в регионе Среднего Поволжья / М. Т. Хурамшина, А. Ф. Махмутов, Г. Н. Спиридовон [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 243 (III). – С. 280-284.
9. Тищенко, А. С. Экзотоксины патогенных *Escherichia coli* / А. С. Тищенко, А. В. Степаненко, В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 5. – С. 3-7.

References

1. Guidelines for the bacterial diagnosis of colibacteriosis (escherichiosis) in animals. Moscow: Standartinform, 2000, 17 p.
2. Tishchenko, A. S. The spread of the causative agent of escherichiosis among calves and piglets in the Krasnodar Territory / A. S. Tishchenko // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman. – 2024. – Vol. 257. – No. 1. – pp. 244-250.
3. Tugarinov, O. A. Colibacteriosis of calves and piglets // Reference book: Infectious diseases of animals – M. "Agropromizdat". 1987. – pp. 14-16.
4. Motorygin, A.V. Etiological structure of escherichiosis in young farm animals / A.V. Motorygin, D. A. Blumenkranz, I. I. Tarasova // Proceedings of the International scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the Orel biofactory: "Scientific foundations of the production and quality assurance of biological preparations for agriculture". Moscow, 2019, pp. 177-186.
5. Semenov, V. G. Immune protection of calves depending on the quality of colostrum / V. G. Semenov, E. P. Simurzina, D. A. Nikitin [et al.] // Veterinarian. – 2023. – № 2. – pp. 33-40.
6. Arbuzova, A. A. Etiological aspects of the occurrence of gastrointestinal diseases of calves of the early postnatal period / A. A. Arbuzova // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. - 2010. – Vol. 200. – pp. 11-18.
7. Makhmutov, A. F. The use of an associated vaccine and hyperimmune serum in the mixed form of infectious diarrhea of newborn piglets / A. F. Makhmutov, A. G. Spiridonov, G. N. Spiridonov // Veterinarian. – 2021. – No. 1. – pp. 30-37.
8. Khuramshina, M. T. The spread of gastrointestinal diseases of newborn calves in the Middle Volga region / M. T. Khuramshina, A. F. Makhmutov, G. N. Spiridonov [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2020. – Vol. 243 (III). – pp. 280-284.
9. Tishchenko, A. S. Exotoxins of pathogenic *Escherichia coli* / A. S. Tishchenko, A.V. Stepanenko, V. I. Terekhov // Veterinary medicine of Kuban. - 2020. – No. 5. – pp. 3-7.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

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

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.
The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 29.08.2025;

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 95 – 102
 The Veterinarian. 2025; (5): 95 – 102

Научная статья
 УДК 619:616.98:578.832.1: 636.52/.58
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_95

СЕЗОННОСТЬ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ГРИППА ПТИЦ В РОССИИ В ПЕРИОД 2005-2023 ГГ

Алексей Викторович Фролов^{1,2}, *admin@viev.ru, info@avivac.com*
 Татьяна Николаевна Рождественская^{1,2}, доктор ветеринарных наук

¹ Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Российская Федерация

²Общество с ограниченной ответственностью «НПП «АВИВАК», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Автор, отвечающий за переписку: Алексей Викторович Фролов.

Аннотация. Данная статья является продолжением ранее проведенной работы по анализу сезонности высокопатогенного гриппа птиц на территории РФ за период 2005-2008гг. В статье изложены данные по статистической обработке материалов о сезонности гриппа птиц в России в 2005-2023гг. Определены месяцы года с высокой вероятностью появления возможных новых очагов гриппа птиц на территории России. Установлено различие проявления сезонности гриппа птиц в мире и в РФ. Проведенная работа по определению сезонности в различных регионах России позволила установить динамику увеличения количества новых очагов гриппа птиц в зависимости от миграционных потоков птиц, связанных с климатическими условиями в период прилета, гнездования и отлета птиц и их молодняка. В соответствии с сезонностью данной инфекции территории РФ условно разделены на регионы с учетом федеральных округов. Было установлено, что месячная динамика вспышек гриппа птиц и клинического проявления инфекции в дикой фауне взаимодополняют друг друга в соседних федеральных округах, в том числе СФО – УФО, СКФО-ЮФО. Рассчитанные коэффициенты и индексы сезонности высокопатогенного гриппа птиц на территории отдельных регионов позволяют судить о выраженной сезонности гриппа птиц в них. Риски вспышек гриппа птиц в ЦФО обусловлены ситуацией не только в данном округе, но и в ПФО и СЗФО, поэтому рассмотрение сезонности и ее параметров по данным регионам проведены отдельно. С точки зрения развития эпизоотического процесса гриппа птиц регионы СЗФО и ДФО относительно «молодые», что проявляется себя повышением интенсивности регистрации новых очагов с 2023г. Для уточнения уровня сезонности в этих регионах необходимо увеличить сроки мониторинга гриппа птиц в них. Материалы статьи могут быть использованы для подготовки плана проведения мониторинговых исследований, противоэпизоотических мероприятий в месяцы с более высокими рисками вспышек гриппа птиц в частном секторе, КФХ, птицефабриках и дикой фауне.

Ключевые слова: грипп птиц, эпизоотическая ситуация, сезонность, очаг, коэффициент сезонности, индекс сезонности

Для цитирования: Фролов А. В., Рождественская Т. Н. Сезонность высокопатогенного гриппа птиц в России в период 2005-2023 гг. // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 95 – 102. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_95

SEASONALITY OF HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA IN RUSSIA IN THE PERIOD 2005-2023

Alexey V. Frolov^{1,2}, *admin@viev.ru, info@avivac.com*
 Tatiana N. Rozhdestvenskaya^{1,2}, Doctor of Veterinary Sciences

¹ Federal Scientific Center - All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences", Moscow, Russian Federation

² Limited Liability Company NPP AVIVAK, Saint Petersburg, Russian Federation

Corresponding author: Alexey Viktorovich Frolov.

Abstract. This article is a continuation of the previous work on the analysis of the seasonality of highly pathogenic avian influenza in the Russian Federation for the period 2005-2008. The article presents data on the statistical processing of materials on the seasonality of avian influenza in Russia in 2005-2023. The months of the year with a high probability of possible new outbreaks of avian influenza in Russia have been identified. The difference between the manifestation of avian influenza seasonality in the world and in the Russian Federation has been established. The work carried out to determine seasonality in various regions of Russia allowed us to establish the dynamics of an increase in the number of new foci of avian influenza depending on the migration flows of birds related to climatic conditions during the arrival, nesting and departure of birds and their young. In accordance with the seasonality of this infection, the territory of the Russian Federation is conditionally divided into regions, taking into account the federal districts. It was found that the monthly dynamics of avian influenza outbreaks and the clinical manifestation of infection in wild fauna complement each other in neighboring federal districts, including the Siberian Federal District and the North Caucasus Federal District. The calculated coefficients and indices of seasonality of highly pathogenic avian influenza in individual regions allow us to judge the pronounced seasonality of avian influenza in them. The risks of avian influenza outbreaks in the Central Federal District are determined by the situation not only in this district, but also in the Volga Federal District and the Northwestern Federal District, therefore, the consideration of seasonality and its parameters for these regions was carried out separately. From the point of view of the development of the epizootic process of avian influenza, the regions of the Northwestern Federal District and the Far Eastern Federal District are relatively "young", which is manifested by an increase in the intensity of registration of new foci from 2023. To clarify the level of seasonality in these regions, it is necessary to increase the monitoring time of avian influenza in them. The materials of the article can be used to prepare a plan for monitoring studies and antiepizootic measures in months with higher risks of outbreaks of avian influenza in the private sector, farms, poultry farms and wild fauna.

Keywords: avian influenza, epizootic situation, seasonality, focus, seasonality coefficient, seasonality index

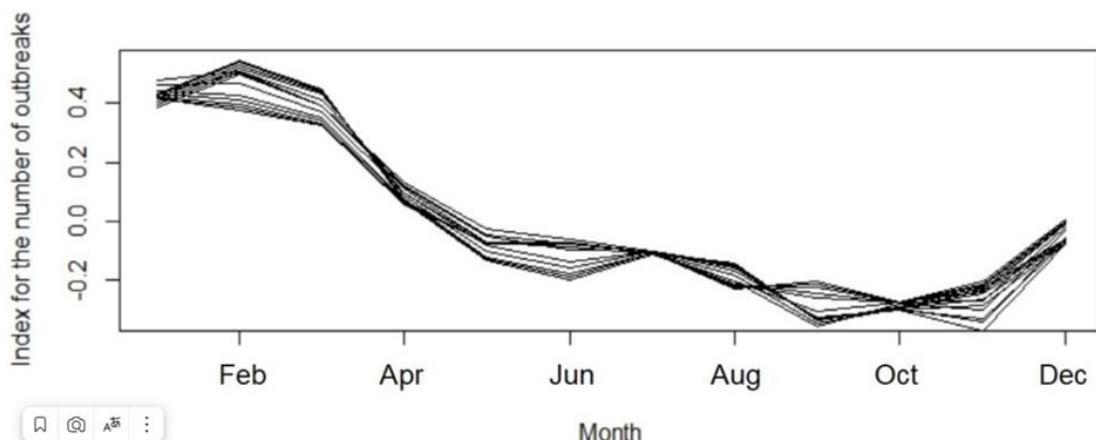
Введение. В течение многих лет эпизоотии гриппа птиц наносят большой ущерб мировому птицеводству. Последняя панзоотия высокопатогенного гриппа птиц H5N1 началась в конце 2003 г. [1]. Глобальное распространение его произошло с апреля 2005г. в Китае, когда в провинции Цинхай пало более 6000 диких водоплавающих птиц [2]. В период с 2005 по 2023 год данная инфекция привела к падежу и массовому забою более 557 миллионов голов домашней птицы по всему миру [3].

Высокопатогенный грипп птиц (далее – ВГП) все чаще стали выявлять у млекопитающих и регистрировать инфицирование у людей. Эксперты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) не исключают, что грипп птиц может стать причиной новой пандемии. Оценка эпизоотических рисков связанных с гриппом птиц ежегодно повышает свою актуальность. Статистический анализ позволяет дать количественную характеристику эпизоотическим явлениям, определить их частоту, выявить взаимосвязи между изучаемыми явлениями и провести достоверную оценку, а также прогнозировать изменения эпизоотической ситуации на исследуемых территориях [4]. Согласно международным данным WAHIS, собранным с 2005 года, ВГП носит сезонный характер: его распространение достигает минимума в сентябре, начинает расти в октябре, достигая пика в феврале месяце (рисунок1).

Для каждого региона мира параметры сезонности могут значительно отличаться вследствие различия временных факторов заноса, распространения и сохранения вируса гриппа птиц обусловленными в том числе климатическими условиями [9].

С целью прогнозирования времени возможных вспышек гриппа птиц на территории России проведен анализ сезонности ВГП. Сезонность (y) представляет собой закономерность развития эпизоотического процесса, проявляющуюся значительным увеличением заболеваемости в определенное время [6].

Рисунок 1 – Сезонная тенденция в глобальной заболеваемости ВГП среди домашних птиц (WAHIS)



Материалы и методы. Проведен анализ официальных данных WAHIS, статистических материалов ФГБУ "Центр ветеринарии" МСХ РФ, Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) и результатов собственных эпизоотологических обследований неблагополучных территорий по гриппу птиц в РФ за период 2005-2023 гг [5].

Анализ ежемесячной динамики за период 2005-2023 гг. обусловлен использованием информации с 2024 г по выявлению новых вспышек гриппа для служебного пользования.

Осуществление эпизоотологических обследований и статистической обработки сезонности и ее параметров, в том числе коэффициента и индекса сезонности проводилось согласно соответствующим методикам [6-8].

Результаты исследований и их обсуждение. С целью определения уровня сезонности ВГП на территории РФ был проведен анализ ежемесячной динамики очагов гриппа птиц за 2005-2023 гг. (таблица 1).

Таблица 1 – Ежемесячная динамика очагов ВГП на территории РФ за период 2005-2023 гг

Месяцы	Годы												Сезонность (у)								
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023		
Январь													4	2		4	3	5	21	3,2	
Февраль	46	13											2				2	2	65	9,9	
Март	29												11				2	1	1	44	6,7
Апрель	5		1									1	4				1	1	2	15	2,3
Май	10											4	11						35	60	9,1
Июнь	2				1							1	39				3	8	13	67	10,2
Июль	21	1											41			2	3	25	10	103	15,6
Август	72		1									1		1	37	1	8	5	126	19,1	
Сентябрь	1		1									3				23	9	1		38	5,8
Октябрь	22			3									1	1		12	34	3	2	78	11,8
Ноябрь	3								1			3	1			6	9	3		26	3,9
Декабрь					5							4	1			3	2	1		16	2,4
Сумма	119	93	23	1	3	1	0	1	0	3	6	8	35	82	2	83	68	56	75	659	100,0

С 2024 г. более объективная регистрация очагов ВГП для служебного пользования.

С целью определения месяцев с большей вероятностью возникновения новых вспышек гриппа птиц определяли среднюю сезонность:

$$y_c = \frac{3,2+9,9+6,7+2,3+9,1+10,2+15,6+19,1+5,8+11,8+3,9+2,4}{12} = 8,3$$

Процентное соотношение частот вспышек ВГП по месяцам в течение 2005 – 2023 гг. позволяет судить о периодах с повышенным риском появления новых очагов гриппа птиц. За данный период в феврале, с мая по август и в октябре месяце частота зарегистрированных очагов гриппа была выше

средней сезонности. Пик интенсивности регистрации вспышек ВГП отмечен был в августе месяце (рисунок 1).

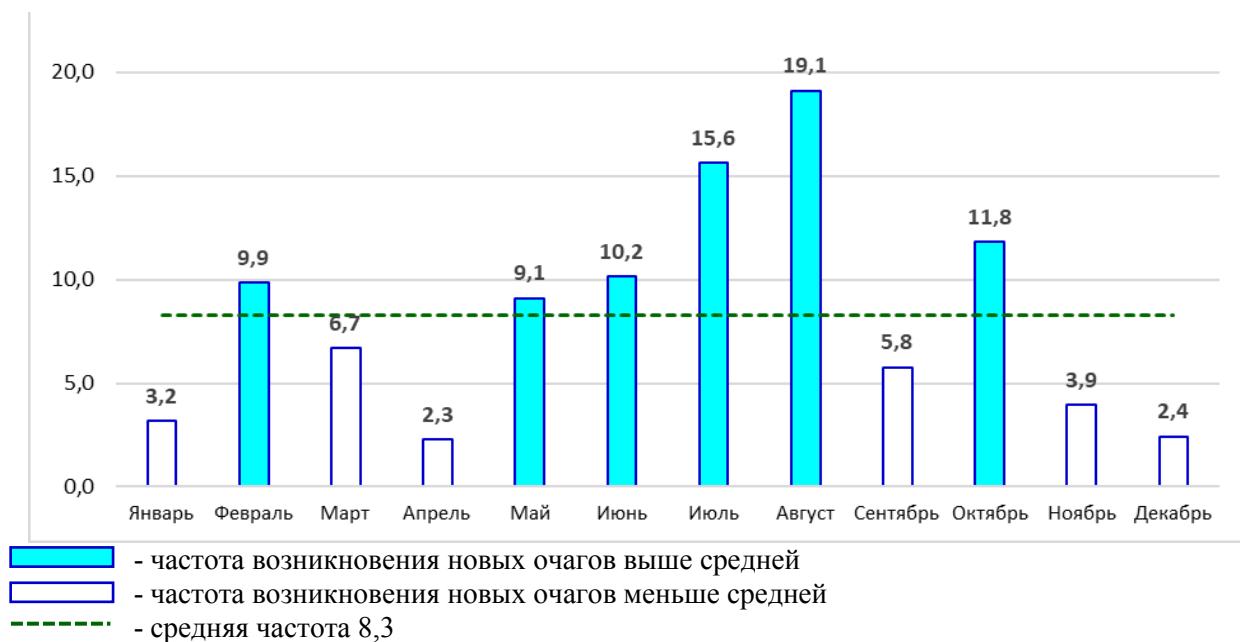
$$K_c = 9,9 + 9,1 + 10,2 + 15,6 + 19,1 + 11,8 = 75,7 \%$$

Согласно полученным результатам ВГП в РФ за период 2005-2023 г. является четко выраженной сезонной болезнью.

$$Ис = \frac{9,9+9,1+10,2+15,6+19,1+11,8}{3,2+6,7+2,3+5,8+3,9+2,4} = 3,1$$

В месяцы сезонного подъема число вспышек ВГП в России регистрировалось в 3,1 раза чаще, чем в остальные месяцы.

Рисунок 2 – Процентное соотношение частоты вспышек гриппа птиц по месяцам (2005-2023 гг.)



Сезонность болезней в значительной степени обуславливается влиянием различных климатических, природно-географических, хозяйствственно-организационных и других факторов. Эти факторы определяют возможность более частных контактов восприимчивых животных с источником (резервуаром) возбудителя инфекции, которые могут снижать резистентность организма и способствовать передаче возбудителя инфекции.

При проведении факторного анализа возникновения и распространения ВГП установлено значительное различие сезонности гриппа птиц в зависимости от регионов РФ (таблица 2).

Условно территория России была разделена на регионы в зависимости от климатических условий, миграционных потоков, времени прилета, гнездования и отлета птиц на зимовку (таблица 2). Сезонность ВГП в регионах РФ значительно отличается в зависимости от регионов. Зональность зависит от миграционных потоков птиц с неблагополучных по ВГП территорий, сроков их гнездования и времени отлета молодняка птиц при его инфицировании в местах вылупления. Отлет птиц с мест гнездования в основном связан со значительным снижением температуры воздуха.

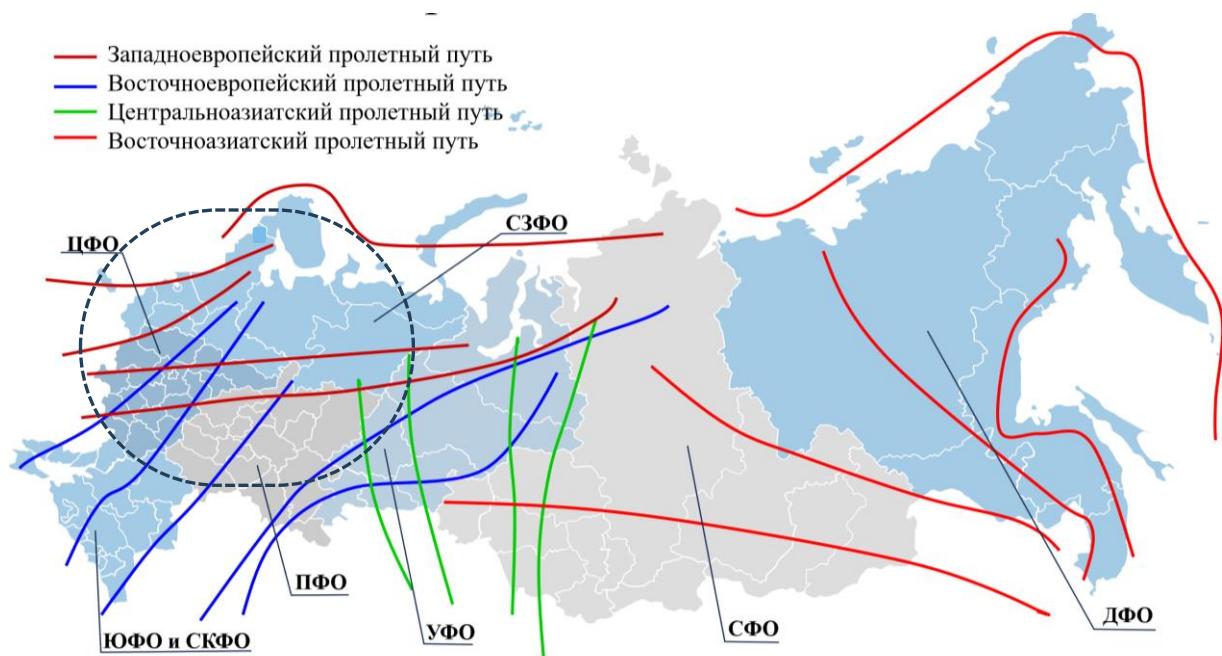
Для западного, центрального, приволжского, южного и сибирского регионов характерно пересечение миграционных потоков различных видов диких птиц, в том числе с Европы, Африки, Ирана, Пакистана и Индии (рисунок 3). На представленной карте миграционных путей представлены основные потоки, при этом распространение птиц не исключает горизонтальные миграционные пути в летний период, которое может затронуть все регионы. При этом не исключено появление новых видов птиц на территориях для них не свойственных при их инфицировании и клиническом проявлении болезни в ходе длительных перелетов.

Таблица 2 – параметры сезонности ВГП в регионах РФ

Регион	ФО	Вспышек	Кс	Ис
Сибирский	СФО	151	96,0	24,2
	УФО	76	86,8	6,6
Приволжский	ПФО	146	84,2	5,3
Центральный	ЦФО	102	84,3	5,4
Южный	СКФО	51	84,3	5,4
	ЮФО	100	77,0	3,3
Дальневосточный	ДФО	17	76,5	3,3
Западный	СЗФО	16	62,5	1,7
РФ		659	75,7	3,1

Повышение интенсивности вспышек ВГП и клинического проявления его среди дикой фауны в ДФО зарегистрировано только в 2022 -2023 г, а СЗФО в 2023 г.

Рисунок 3 – Миграционные потоки птиц на территории РФ



Сроки неблагополучия территорий по ВГП зависят от видового состава и концентрации птиц, кормовой базы и сопутствующих заболеваний, возможности увеличения сроков сохранности и распространения возбудителя гриппа на территории регионов при повторных вспышках. Продолжительность сохранности вируса гриппа на отдельных территориях может быть обусловлена инфицированием синантропных птиц, не санкционированными свалками с павшими птицами, участниками расклева и раздера трупов птиц, контаминацией кормов, оборудования, инвентаря и транспорта, также включение в эпизоотический процесс млекопитающих, рыб, людей.

Для сибирского региона повышение количества вспышек было отмечено с мая по октябрь, переходом сроков неблагополучия с СФО на УФО (рисунок 4). По срокам неблагополучия территории центрального и приволжского регионов взаимодополняют друг друга с более высокой частотой сезонности с мая по июль (рисунки 5-6). Для центрального региона характерно увеличение количества очагов с февраля по март (рисунок 5), а для приволжского в октябре месяце (рисунок 6).

Для южного региона повышение интенсивности выявления очагов ВГП характерно с ноября по апрель (рисунок 7). В западном регионе очаги гриппа птиц более интенсивно выявлялись в период с мая по июнь и в октябре месяце, с пиком в июле месяце (рисунок 8). Максимальная частота вспышек гриппа птиц на территории восточного региона зарегистрирована в июле месяце, с периодом повышенного риска возникновения новых вспышек ВГП с апреля по ноябрь (рисунок 9).

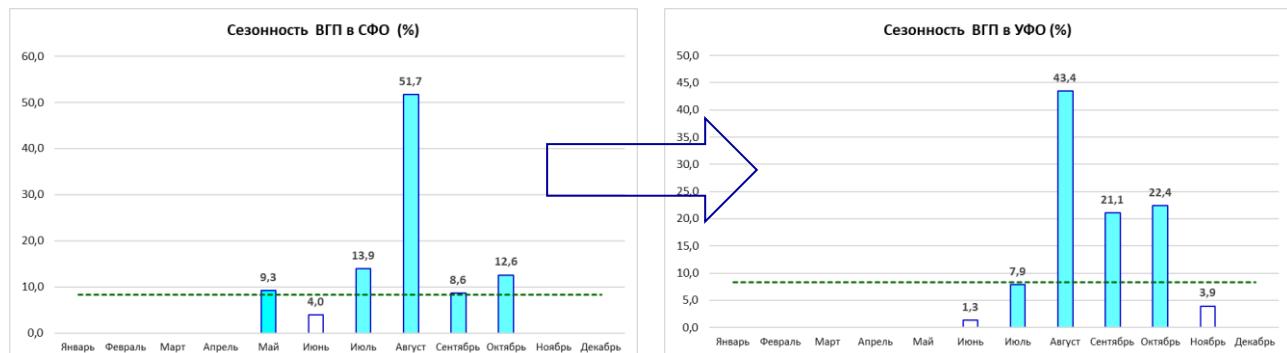


Рисунок 4 – Сезонность ВГП в сибирском регионе

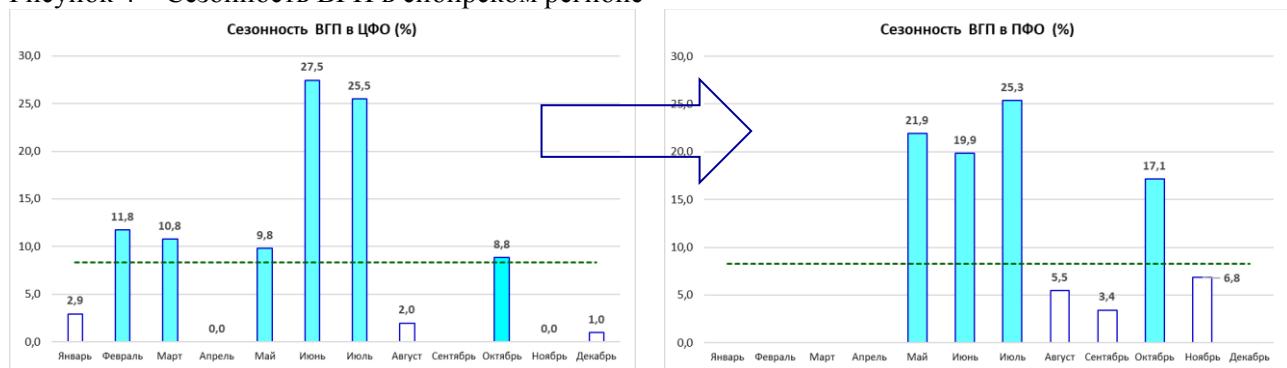


Рисунок 5 – Сезонность ВГП в центральном регионе

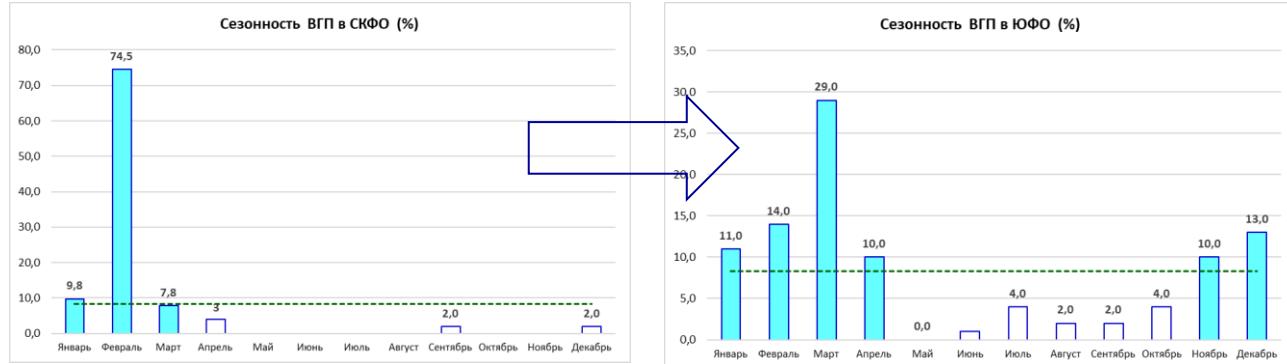


Рисунок 7 – Сезонность ВГП в южном регионе

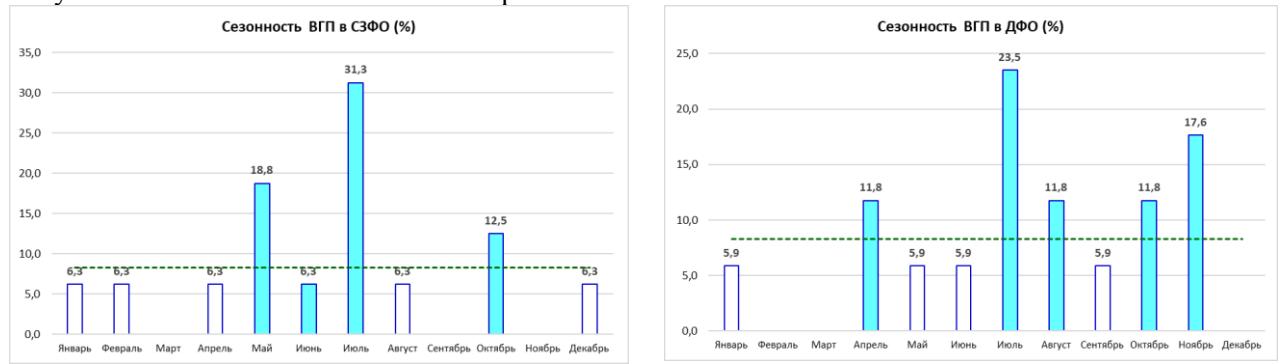


Рисунок 8 – Сезонность ВГП в западном регионе

- частота возникновения новых очагов выше средней
 - частота возникновения новых очагов выше средней
 - средняя частота 8,3

Рисунок 9 – Сезонность ВГП в восточном регионе

Выводы

1. Сезонность высокопатогенного гриппа в РФ значительно отличается от сезонности данной инфекции в мире
2. Высокопатогенный грипп птиц на территории России протекал в период 2005-2023 гг., как выраженное сезонное заболевание с наибольшим числом вспышек в феврале, с мая по август и в октябре месяцах
3. Число вспышек высокопатогенного гриппа птиц в России в период сезонного подъема было в 3,1 раза выше, чем в остальное время
4. В различных регионах РФ сезонность и ее параметры значительно отличаются в следствие различия климатических условий, миграционных потоков, времени прилета, гнездования и отлета птиц на зимовку
5. Необходимо усилить контроль и проведение мониторинговых исследований, противоэпизоотических мероприятий в месяцы с более высокими рисками вспышек гриппа птиц в частном секторе, КФХ, птицефабриках и клинического проявления ГП в дикой фауне

Список источников

1. Ирза, В.Н. Грипп птиц - вопросы эпизоотологии и стратегия профилактики / В. Н. Ирза // Инфекционная патология животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 50-летию ФГУ "ВНИИЗЖ". - 2009. - С. 94-96.
2. Высокопатогенный грипп птиц. Текущая ситуация и меры контроля / Н.А. Власов В.Н. Ирза, А.В. А.В. Фролов [и др.] // Ветеринария. - 2010. - № 1. - С. 3-7.
3. High Pathogenicity Avian Influenza (HPAI) // [Электронный ресурс]. Situation Report 62 - WOAH - World Organisation for Animal Health: сайт. <https://www.woah.org/app/uploads/2024/09/hpai-report-62.pdf>
4. Горпинченко К.Н. Статистическая оценка эпизоотического состояния территории России / К.Н. Горпинченко, Е.А. Горпинченко, Д.О. Алферов // Тенденции развития науки и образования. — Самара: LJJournal, 2022, — № 92. - Ч. 5. — С. 8–11.
5. Фролов, А. В. Сезонность высокопатогенного гриппа птиц в России / А. В. Фролов // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2011. – Т. 9. – С. 85-93. – EDN OHSKYL.
6. Нуйкин В.Я. Материалы и методы эпизоотологической нозогеографии. – Москва: МВА, 1977. – 64 с.
7. Рекомендации по методике эпизоотологического исследования / И.А. Бакулов [и др]. – Покров, 1975.- 75 с.
8. Сосов Р.В., Глушков А.А. Методические указания по применению статистических методов в эпизоотологии. – Москва, 1974. – 67 с.
9. Никитеев, П. А. Анализ эпизоотической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в Ростовской области / П. А. Никитеев, А. Н. Тазаян, Т. С. Тамбиеев // Международный научно-исследовательский журнал. – 2024. – № 1(139). – DOI 10.23670/IRJ.2024.139.108. – EDN LZGWQX

References

1. Irza, V.N. Avian influenza - epizootological issues and prevention strategy / V. N. Irza // Infectious pathology of animals: materials of the International scientific-practical conference dedicated to the 50th anniversary of the Federal State Institution "All-Russian Research Institute of Animal Health" (FSI «ARRIAH»). - 2009 - pp. 94-96.
2. Highly pathogenic avian influenza. Current situation and control measures / N.A. Vlasov, V.N. Irza, A.V. A.V. Frolov [et al.] // Veterinary Medicine. - 2010 - No. 1 - pp. 3-7.
3. High Pathogenicity Avian Influenza (HPAI) // [Electronic resource]. Situation Report 62 - WOAH - World Organization for Animal Health: website. <https://www.woah.org/app/uploads/2024/09/hpai-report-62.pdf>
4. Gorpichenko K.N. Statistical assessment of the epizootic state of the territory of Russia / K.N. Gorpichenko, E.A. Gorpichenko, D.O. Alferov // Trends in the Development of Science and Education. — Samara: LJJournal, 2022 — No. 92 - Part 5 — pp. 8–11.

5. Frolov, A. V. Seasonal patterns of highly pathogenic avian influenza in Russia / A. V. Frolov // Proceedings of the Federal Center for Animal Health Protection. – 2011 – Vol. 9 – pp. 85-93. – EDN OHSKYL.
6. Nuikin V.Ya. Materials and methods of epizootological nosogeography. – Moscow: MVA, 1977 – 64 p.
7. Recommendations on the methodology of epizootological research / I.A. Bakulov [et al]. – Pokrov, 1975.- 75 p.
8. Sosov R.V., Glushkov A.A. Methodological guidelines for the application of statistical methods in epizootology. – Moscow, 1974 – 67 p.
9. Nikiteev, P. A. Analysis of the epizootic situation of highly pathogenic avian influenza in Rostov region / P. A. Nikiteev, A. N. Tazayan, T. S. Tambiev // International scientific-research journal. – 2024 – No. 1(139). – DOI 10.23670/IRJ.2024.139.108. – EDN LZGWQX

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

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

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

The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 29.09.2025;

© Фролов А. В., Рождественская Т. Н. 2025

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 103 – 109
 The Veterinarian. 2025; (5): 103 – 109

Научная статья
 УДК 502.2:543.9
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_103

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ КАК ОБЪЕКТ РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Камиль Талгатович Ишмухаметов, кандидат биологических наук, *kamil-ishmuhamedov@rambler.ru*
 Ягафар Мубаракзянович Курбангалеев, кандидат биологических наук, *yag72@yandex.ru*
 Муланур Махсутович Шакуров, кандидат биологических наук, *vnivi@vnivi.ru*
 Руслан Рустамович Гайнуллин, кандидат биологических наук, *gairuslan10@mail.ru*
 Марина Юрьевна Галлямова, *marina_rb@inbox.ru*

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань,
 Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку: Камиль Талгатович Ишмухаметов.

Аннотация. В этой позиционирующей статье рассматриваются фрагменты материалов исследовательских работ отделения радиобиологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в зонах Чернобыльской АЭС в послеаварийные годы, результаты работ по животным, привезенным в Федеральный центр из 30-километровой зоны ЧАЭС, а также данные по хроническому внешнему и сочетанному радиационному воздействию на сельскохозяйственных и лабораторных животных в условиях эксперимента. Сельскохозяйственные животные, как и любые живые организмы, реагируют на изменения окружающей среды адаптивными реакциями в соответствии с принципами органического гомеостаза. Результаты отражения этих воздействий экстраполируются на вызывающие их внешние и внутренние факторы и часто, с большей долей вероятности, они определяют их величины. Что касается влияния радиационных факторов и, часто, целого комбинированного комплекса воздействий, которые имеют место при использовании ядерных зарядов, авариях на предприятиях атомной промышленности и прочем, они вызывают целый комплекс изменений в организме человека и животных, по степени трансформации которых можно судить о мощности и зональности воздействующих агентов. Животные не могут ощутить воздействие радиации, но эффекты, которые имеют место при этом воспринимаются проявлением лучевой патологии. В статье анализируются данные по дозиметрическим исследованием щитовидных желез у крупного рогатого скота *in vivo* в зонах ЧАЭС, а также приведены данные метода определения тяжести лучевого поражения животных по результатам дозиметрии, анализ клинических признаков поражения животных, длительно находящихся в зонах ЧАЭС, акцентируется внимание на желательность анализа ветеринарной отчетности по движению поголовья животных, анализа причин выбраковки, падежа, болезней заразной и неинфекционной этиологии, приводится вывод о возможности использования сельскохозяйственных животных в качестве объекта радиоэкологического мониторинга в целях оценки степени и характера загрязнения окружающей среды.

Ключевые слова: радиационные загрязнения, мониторинг, биоиндикация

Благодарности: Авторы благодарят руководство Федерального центра за предоставленную возможность проведения научных исследований, а также профессора Р.Н. Низамова за консультативную помощь и содействие.

Для цитирования: Ишмухаметов К.Т., Курбангалеев Я.М., Шакуров М.М., Гайнуллин Р.Р., Галлямова М.Ю. Сельскохозяйственные животные как объект радиоэкологического мониторинга // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 103 – 109. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_103

FARM ANIMALS AS OBJECTS OF RADIOECOLOGICAL MONITORING

Kamil T. Ishmukhametov, candidate of biological sciences, *kamil-ishmuhamedov@rambler.ru*
 Yagafar M. Kurbangaleev, candidate of biological sciences, *yag72@yandex.ru*

Mulanur M. Shakurov, candidate of biological sciences, vnivi@vnivi.ru
 Ruslan R. Gainullin, candidate of biological sciences, gairuslan10@mail.ru
 Marina Yu. Gallyamova, marina_rb@inbox.ru

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

Corresponding author: Kamil Talgatovich Ishmukhametov.

Abstract. This positioning article examines fragments of research materials from the radiobiology department of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Center for toxicological, radiation, and biological safety” in the Chernobyl NPP zones in the post-accident years, the results of work on animals brought to the Federal Center from the 30-km zone of the ChNPP, as well as data on chronic external and combined radiation exposure on agricultural and laboratory animals under experimental conditions. Farm animals, like any living organisms, respond to environmental changes with adaptive reactions in accordance with the principles of organ homeostasis. The results of these effects are extrapolated to the external and internal factors that cause them and often, with a greater degree of probability, they determine their magnitudes. As for the influence of radiation factors and, often, a whole complex of combined effects that occur when using nuclear charges, accidents at nuclear industry enterprises, etc., they cause a whole complex of changes in the body of humans and animals, the degree of transformation of which can be used to judge the power and zonality of the influencing agents. Animals cannot feel the effects of radiation, but the effects that occur are perceived as manifestations of radiation pathology. The article analyzes data on dosimetric studies of the thyroid glands of cattle in vivo in the ChNPP zones, and also provides data on the method for determining the severity of radiation damage to animals based on the results of dosimetry, analysis of clinical signs of damage to animals that have been in the Chernobyl zones for a long time, attention is focused on the desirability of analyzing veterinary reports on the movement of livestock, analyzing the reasons for culling, mortality, infectious and non-infectious diseases, the conclusion is made about the possibility of using farm animals as an object of radioecological monitoring for the purpose of assessing the degree and nature of environmental pollution.

Keywords: radiation pollution, monitoring, bioindication

Введение. Широкое применение ядерных технологий в медицине, науке, промышленности, энергетике, сопровождающееся аварийными и плановыми выбросами в окружающую среду искусственных радионуклидов, с последующим их включением в разнообразные цепи миграции, включая животных и человека, обуславливает формирование сверхнормативных доз облучения [3]. В связи с указанным важным является проведение мониторинговых исследований на загрязненных радионуклидами территориях, в т.ч. на следе аварийного выброса Чернобыльской АЭС и оценка влияния антропогенных радиационных факторов на живую природу, человека и животных [1-2, 4-9].

В системе радиоэкологического мониторинга в качестве объектов индикации могут использоваться животные, особенно тех видов, которые наиболее подвержены влиянию радиации и которые наиболее важны с точки зрения нормального функционирования сообщества и экосистемы и типичны для данной конкретной экосистемы. С этих позиций объектами биологической индикации могут служить сельскохозяйственные животные. В соответствии с энциклопедическим определением биологические индикаторы – это организмы, которые реагируют на изменения окружающей среды своим присутствием или отсутствием, изменением внешнего вида, химического состава, поведения. При экологическом мониторинге использование биологических индикаторов дает более ценную информацию, чем получение информации при тех же условиях с помощью приборов, так как биологические индикаторы реагируют сразу на весь комплекс загрязнений. Кроме того, обладая «памятью», биологические индикаторы своими реакциями отражают изменения за длительный период времени. Важным преимуществом биологических индикаторов является их простота, отсутствие дорогостоящего и сложного оборудования. Биологические методы не требуют специальной пробоподготовки и выделения определяемого соединения. Они позволяют проводить исследования в полевых условиях непосредственно на месте отбора проб. С помощью биологических индикаторов возможно значительно упростить анализ самых различных природных объектов, оценивая на первой его стадии степень общего загрязнения и общей токсичности объекта для живого организма и целесообразность его дальнейшего анализа другими более сложными и дорогостоящими методами.

Сельскохозяйственные животные в качестве объекта биоиндикации отражают эффект кумуляции радиоактивных загрязнений, фиксируют степень, скорость и тенденции изменений окружающей среды, указывают на места накопления загрязнений и выявляют пути проникновения загрязнен-

ний в пищу человека. Индикаторами уровней загрязнения окружающей среды радионуклидами могут служить как сами животные, так и продукты животноводства. При этом важными является системный подход к оценке действия комплекса факторов и интегральные оценки действия всей совокупности загрязнений.

Инструментальными исследованиями устанавливают вид и степень загрязнения, а биологическими – реакции организма на молекулярно-генетическом, органном и системном уровнях. Выявляют наиболее информативные биологические показатели, характеризующие уровень техногенной нагрузки и контролирующие эффективность мероприятий по защите окружающей среды от загрязнения. Результаты, полученные по каждому направлению, имеют самостоятельное значение, что позволяет смещать акценты в определении значимости выполнения тех или иных исследований. Данные, полученные при системном подходе к организации исследований сочетанного действия факторов различной природы, могут служить основой для разработки алгоритмов, и использованы в автоматизированной системе контроля загрязнения окружающей среды. В последующем на базе полученных данных выстраиваются мероприятия по защите окружающей среды и биологических объектов от загрязнений [10-14].

Исходя из сказанного была поставлена цель – обобщить данные по оценке влияния радиационных факторов на сельскохозяйственных животных и оценить возможность использования сельскохозяйственных животных в качестве объекта радиоэкологического мониторинга.

Материалы и методы. В аналитической статье использованы данные по диспансерным обследованиям крупного рогатого скота, овец и свиней в зонах загрязнения ЧАЭС, материалы по изучению клинико-гематологических, иммунологических, биохимических показателей крупного рогатого скота и овец, привезенных в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» из 30-километровой зоны ЧАЭС, экспериментальные данные по хроническому облучению сельскохозяйственных и лабораторных животных в условиях ВНИВИ, материалы мониторинговых исследований в Республике Беларусь и Российской Федерации и разработки отделения радиобиологии ВНИВИ по биобезопасности животных [3].

Результаты исследований и их обсуждение. О величине радиоактивного загрязнения территорий можно судить по поглощенной щитовидной железой дозе у животных находящихся на открытой местности в момент выпадения «молодых» продуктов ядерного деления урана (^{235}U) и плутония (^{239}Pu). Эта доза также определяет степень тяжести развития острого лучевого поражения. При поглощении щитовидной железой дозы гамма-радиации порядком 0,01-0,02 кГр развивается острая лучевая болезнь легкой степени, дозы 0,02-0,10 кГр – средней степени и 0,10-0,30 кГр – тяжелой степени тяжести. Степень проявления биологических реакций на воздействие радионуклидов йода связана с содержанием стабильного йода в рационе. Чем больше концентрация йода в рационе, тем менее выражено поражение щитовидной железы.

После выпадения на местности «молодых» продуктов ядерного деления и формирования в щитовидной железе пораженных животных поглощенной дозы более 0,01 кГр регистрируют реакции гормональной системы организма. Характерно уменьшение концентрации тироксина и повышение титров аутоантител к тканям щитовидной железы, резкое угнетение в органе йодпоглотительной функции. На клеточном и органном уровнях выявляют нарушение морфологии щитовидной железы и других внутренних органов. При морфологическом исследовании щитовидной железы жвачных животных, облученной дозой более 0,20 кГр выявляют некробиотические изменения фолликулов с разрастанием соединительной ткани в пораженные участки через 1,5-2 месяцев, атрофию и некроз органа спустя 8-11 месяцев. Морфологические изменения в других органах и тканях характерны для мицедемы: слизистое перерождение околопочекной и перикардиальной ткани, инфильтративное ожирение печени.

Для ранней диагностики тяжести радиационного поражения теплокровных животных радиоидом (^{131}I) при поступлении изотопа с кормом разработан способ, основанный на использовании дозиметрического показателя состояния щитовидной железы. Сущность изобретения состоит в определении соотношения $10 \cdot P_{\text{щж}}/(P_0)^2 = D_n$, где $P_{\text{щж}}$ – мощность экспозиционной дозы в области щитовидной железы; P_0 – мощность экспозиционной дозы в области бедра; D_n – дозиметрический показатель состояния щитовидной железы, причем при значении $D_n = 5$ диагностируют подострую форму радиационного поражения, а при $D_n = 54000$ у.е. – хроническую форму радиационного поражения.

Показателями неблагополучного состояния животных при их длительном содержании на территории загрязненной «молодыми» продуктами аварийного выброса Чернобыльской АЭС оказался комплекс следующих признаков: ректальная температура ниже 37 °C, нарушение функции органов дыхания (кашель, хрипы), нарушения функции пищеварения (периодическая диарея), нарушение воспроизводительной функции (бесплодие, болезни новорожденных и молодняка), содержание обще-

го числа лейкоцитов в крови менее 4,6 тыс. в 1 микролитре, толщина кожной складки в области средней части шеи более 12 мм (норма 6-10 мм), длина волос на холке более 80 мм (норма до 70 мм), курчавость, очаговое облысение, экзофталм, повышение титра аутоантител в сыворотке крови к тканям щитовидной железы более 2,5 баллов (норма до 1 балла), уменьшение или увеличение концентрации тироксина в сыворотке крови, соответственно менее 10 или более 100 нмоль/л (норма 40-80 нмоль/л), уменьшение или увеличение массы щитовидной железы, соответственно менее 4 или более 50 г (норма 20-40 г), склероз, атрофия и реже гиперплазия средостенных и мезентериальных лимфоузлов, наличие слизистого перерождения околопочечной и перикардиальной жировой ткани. На уровне целостного организма показателем радиационного поражения щитовидной железы у жвачных животных является ухудшение их общего клинического состояния, нарушение воспроизводительной функции, снижение молочной и шерстной продуктивности, выживаемости. Интегральным показателем радиационной нагрузки служат также показатели иммунного статуса животных, выражющиеся в угнетении клеточных и гуморальных факторов резистентности.

В отдаленный период радиационного поражения и после хронического облучения использование сельскохозяйственных животных в качестве биологических индикаторов дает ценную информацию, так как они реагируют сразу на весь комплекс загрязнений окружающей среды факторами радиационной, химической и биологической природы. Оценка физиологического состояния сельскохозяйственных животных на техногенно загрязненных территориях, осуществляемая путем проведения диспансеризации как формы мониторинга, позволяет прогнозировать благополучие поголовья животных и проводить необходимые оздоровительные мероприятия по повышению их естественной резистентности. Диспансеризация включает клиническое обследование поголовья животных в хозяйстве с использованием как общих, так и специальных методов исследования; изучение типа и уровня кормления, качества кормов, условий содержания и эксплуатации животных, проведение лечебных и профилактических мероприятий.

На территориях, загрязненных цезием-137 выше 1110 кБк/м² особый упор делается на гематологические исследования – определение содержания лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, СОЭ, биохимические исследования – содержание тяжелых металлов в зоне промышленных объектов, исследование на радионуклиды (¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr) и тяжелые металлы (Pb, Cd, Cr, Cu, Zn, Fe).

В хозяйствах, которые имеют более половины пастбищ, загрязненных цезием-137 более 1,11 кБк/м² могут периодически выявляться отклонения показателей крови и иммунного статуса. Они выражаются в снижении или повышении отдельных показателей до крайних границ нормы. Все эти изменения носят преходящий – временный характер и в ряде случаев провоцируются нарушением зооветеринарных правил содержания и кормления сельскохозяйственных животных.

Содержание лейкоцитов в крови физиологически здорового крупного рогатого скота 15-18 месячного возраста составляет 5-10 тыс/мкл, у свиней крупной русской породы 3-4 месячного возраста – 8-16 тыс/мкл, у взрослых свиней – 15-20 тыс/мкл. При острой лучевой болезни средней, тяжелой и крайне тяжелой степени в первые 3-6 суток содержание лейкоцитов в крови уменьшается соответственно на 50-60, 50-75, 75-90 %. При содержании животных на территории с повышенным содержанием антропогенных загрязнений число лейкоцитов в крови может находиться на нижней границе физиологической нормы.

Содержание лимфоцитов в крови составляет: у крупного рогатого скота 65,7±1,16 % (6,3±0,23 тыс/мкл); у свиней 40-50 % (4,0-9,0 тыс/мкл). При острой лучевой болезни животных средней, тяжелой и крайне тяжелой степени число лимфоцитов в крови в первые 3-6 дней уменьшено на 30-50, 50-80, 70-90 % соответственно. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий и др.) содержание лимфоцитов в крови может быть, как уменьшено, так и увеличено до границ физиологической нормы.

Содержание Т-лимфоцитов в крови составляет: у крупного рогатого скота 31,3±1,8 % (1,9±0,09 тыс/мкл); у свиней 45,0±2,2 % (37-53 %) или 4,75±0,42 тыс/мкл (3,0-7,0 тыс/мкл). При острой лучевой болезни животных средней, тяжелой и крайне тяжелой степени число Т-лимфоцитов в крови в первые 3-6 дней уменьшено на 30-50, 50-80, 70-90 % соответственно. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий и др.) содержание Т-лимфоцитов в крови может быть уменьшено.

Содержание субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови у крупного рогатого скота составляет 35,5±2,8 % (2,2±0,17 тыс/мкл), у свиней 18,6±1,6 % (12,5-26,5 %). При острой лучевой болезни средней, тяжелой и крайне тяжелой степени число В-лимфоцитов в крови в первые 3-6 дней уменьшено на 30-50, 50-80, 70-90 % соответственно. В регионах с повышенным уровнем радио-

нуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий и др.) содержание В-лимфоцитов в крови может быть уменьшено.

Индекс стимуляции (ИС) в реакции бластрansформации лимфоцитов (РБТЛ) на фитогемаглутинин (ФГА) составляет у крупного рогатого скота и свиней 140 ± 25 условных единиц. При острой лучевой болезни животных средней, тяжелой и крайне тяжелой степени индекс стимуляции в РБТЛ в первые 3-6 дней уменьшен на 30-50, 50-80, 70-95 % соответственно. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий и др.) ИС в РБТЛ может быть уменьшен до 30 %.

Фагоцитарная активность нейтрофилов составляет у крупного рогатого скота 30-80 условных единиц (у.е.), у свиней 12-30 у.е. При острой лучевой болезни животных средней, тяжелой и крайне тяжелой степени фагоцитарная активность и фагоцитарный индекс в первые 3-6 дней снижены на 15-40 %. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий и др.) фагоцитарная активность и фагоцитарный индекс могут находиться на нижней границе физиологической нормы.

Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови у крупного рогатого скота составляет по иммуноглобулину «G» – $15,7\pm0,9$ мг/мл (10-24 мг/мл), IgM – $1,3\pm0,2$ (0,6-2,8), у свиней IgG – $17,5\pm1,1$ (14,0-20,0), IgM – $1,25\pm0,34$ (1,0-2,2). При острой лучевой болезни животных средней, тяжелой и крайне тяжелой степени уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови в первые 3-6 дней существенно не изменяется. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий и др.) содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови может быть уменьшено или увеличено на 10-40 %.

Концентрация циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови крупного рогатого скота и свиней при острой лучевой болезни средней, тяжелой и крайне тяжелой степени тяжести в первые 3-6 дней существенно не изменяется. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий, пестициды и др.) концентрация ЦИК в сыворотке крови может быть увеличена до 200 % от физиологической нормы.

Бактерицидная активность сыворотки крови у крупного рогатого скота составляет 70-80 %, свиней 60-80 %. При острой лучевой болезни тяжелой и крайне тяжелой степени тяжести бактерицидная активность крови в первые 3-6 дней уменьшается на 50-60 и 60-70 % соответственно. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий и др.) бактерицидная активность крови может находиться на нижней границе физиологической нормы.

Бета-литическая активность крови составляет: у крупного рогатого скота 20-30 %. При острой лучевой болезни средней, тяжелой и крайне тяжелой степени бактерицидная активность крови в первые 3-6 дней уменьшается на 25-30, 50-60 % соответственно. В регионах с повышенным уровнем радионуклидов и химических загрязнений (тяжелые металлы, выбросы промышленных предприятий, пестициды и др.) бактерицидная активность может находиться на нижней границе физиологической нормы.

Для интегральной оценки влияния на сельскохозяйственных животных факторов радиационной и нерадиационной природы могут быть использованы результаты анализа статистических данных ветеринарной государственной отчетности: продуктивности, воспроизводительной функции, выраковки по причине незаразных и заразных болезней, заболеваемости лейкозом и другими инфекционными болезнями.

Заключение. Сельскохозяйственные животные могут являться объектами радиоэкологического мониторинга. Степень радиоактивного загрязнения территории «молодыми» продуктами ядерного деления определяется по величине поглощенной дозы радиации щитовидной железой. Клинико-гематологические, иммунологические и биохимические показатели у сельскохозяйственных животных, а также степень радиационного загрязнения животноводческой продукции отражают уровни радиоактивного загрязнения территорий.

Список источников

1. Вагин, К.Н. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветнадзора Республики Мордовия / К. Н. Вагин, Г. И. Рахматуллина, К. Т. Ишмухаметов, И. Р. Юнусов, Г. В. Конюхов, Н. Б. Тарасова, Н. М. Василевский // Материалы всероссийской научно-практической конференции. – 2019. – С. 351-356.

2. Галлямова, М.Ю. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветнадзора Республики Крым / М. Ю. Галлямова, К. Т. Ишмухаметов, К. Н. Вагин, Г. И. Рахматуллина, Р. М. Асланов // Материалы XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых. – 2020. – С. 62-64.
3. Ишмухаметов, К.Т. Изменения структурно-функциональных характеристик щитовидных желез у овец вследствие длительного нахождения в зонах аварийного выброса Чернобыльской АЭС / К. Т. Ишмухаметов // Вестник биотехнологии. – 2023. – № 3 (36).
4. Ишмухаметов, К.Т. Оценка радиационной обстановки в Воронежской области применительно к производственной деятельности АПК / К. Т. Ишмухаметов, М. Ю. Галлямова, К. Н. Вагин, Г. И. Рахматуллина, И. Р. Юнусов // Ветеринарный врач. – 2024. – № 1. – С. 58-65.
5. Ишмухаметов, К.Т. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветеринарного надзора Липецкой области / К. Т. Ишмухаметов, К. Н. Вагин, Г. И. Рахматуллина, Э. И. Семенов // Вестник Марийского государственного университета. – 2024. – Т. 10, № 2 (38). – С. 134-141.
6. Ишмухаметов, К.Т. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветнадзора Орловской области / К. Т. Ишмухаметов, К. Н. Вагин, Р. Р. Гайнуллин, Г. И. Рахматуллина, И. Р. Юнусов // Материалы Международной научно-практической конференции. – 2020. – С. 53-56.
7. 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.
8. Ишмухаметов, К.Т. Радиационно-экологический мониторинг в Орловской области / К. Т. Ишмухаметов, Р. Н. Низамов, И. Р. Юнусов, М. Ю. Галлямова // Вестник Чувашского государственного аграрного университета. – 2022. – № 1 (20). – С. 47-50.
9. Низамов, Р.Н. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветеринарного надзора Белгородской области / Р. Н. Низамов, К. Т. Ишмухаметов, И. Р. Юнусов, К. Н. Вагин, М. Ю. Галлямова, Г. И. Рахматуллина // Сборник материалов Международной научно-практической конференции. Казань, 2022. – С. 125-129.
10. Рахматуллина, Г.И. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветнадзора в Тульской области / Г. И. Рахматуллина, К. Н. Вагин, И. Р. Юнусов, И. Р. Мухаметшин, М. Ю. Галлямова, К. Т. Ишмухаметов // Сборник материалов международной научно-практической конференции, посвящённой памяти профессора Х.Х. Абдуллина. Казань, 2024. – С. 630-632.
11. Рахматуллина, Г.И. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветеринарного надзора Республики Удмуртия / Г. И. Рахматуллина, К. Н. Вагин, К. Т. Ишмухаметов, Р. Н. Низамов, М. Ю. Галлямова // Сборник докладов IV Международной научно-практической конференции. Обнинск, 2021. – С. 143-146.
12. Рахматуллина, Г.И. Радиационно-гигиеническая экспертиза объектов ветнадзора Республики Марий Эл / Г. И. Рахматуллина, М. Ю. Галлямова, И. Р. Юнусов, К. Т. Ишмухаметов, К. Н. Вагин // Материалы XVIII Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов, ученых, педагогических работников и специалистов-практиков. Тюмень, 2021. – С. 185-189.
13. Рахматуллина, Г.И. Радиационно-экологический мониторинг в объектах ветнадзора Курской области / Г. И. Рахматуллина, К. Н. Вагин, М. Ю. Галлямова, К. Т. Ишмухаметов, И. Р. Юнусов, В. Г. Семенов // Сборник материалов Третьей Международной научно-практической конференции, посвящённой 95-летию со дня рождения профессора В.А. Киршина. – 2023. – С. 220-228.
14. Юнусов, И.Р. Радиометрическая оценка продукции АПК в отдельных сельскохозяйственных предприятиях Калужской области / И. Р. Юнусов, К. Т. Ишмухаметов, Г. И. Рахматуллина // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2023. – Т. 9, № 3 (35). – С. 304-310.

References

1. Vagin, K.N. Radiation-hygienic examination of veterinary surveillance facilities of the Republic of Mordovia / K. N. Vagin, G. I. Rakhmatullina, K. T. Ishmukhametov, I. R. Yunusov, G. V. Konyukhov, N. B. Tarasova, N. M. Vasilevsky // Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference. – 2019. – P. 351-356.
2. Gallyamova, M.Yu. Radiation-hygienic examination of veterinary surveillance facilities of the Republic of Crimea / M. Yu. Gallyamova, K. T. Ishmukhametov, K. N. Vagin, G. I. Rakhmatullina, R. M.

Aslanov // Materials of the XIII International Scientific and Practical Conference of Young Scientists. – 2020. – pp. 62-64.

3. Ishmukhametov, K.T. Changes in the structural and functional characteristics of the thyroid glands in sheep due to long-term exposure to the Chernobyl nuclear power plant accident release zones / K. T. Ishmukhametov // Bulletin of Biotechnology. – 2023. – No. 3 (36).
4. Ishmukhametov, K.T. Assessment of the radiation situation in the Voronezh region in relation to the production activities of the agro-industrial complex / K. T. Ishmukhametov, M. Yu. Gallyamova, K. N. Vagin, G. I. Rakhmatullina, I. R. Yunusov // The Veterinarian. – 2024. – No. 1. – P. 58-65.
5. Ishmukhametov, K.T. Radiation-hygienic examination of veterinary supervision facilities in the Lipetsk region / K. T. Ishmukhametov, K. N. Vagin, G. I. Rakhmatullina, E. I. Semenov // Bulletin of the Mari State University. – 2024. – V. 10, No. 2 (38). – P. 134-141.
6. Ishmukhametov, K.T. Radiation-hygienic examination of veterinary surveillance facilities in the Oryol region / K. T. Ishmukhametov, K. N. Vagin, R. R. Gainullin, G. I. Rakhmatullina, I. R. Yunusov // Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. – 2020. – P. 53-56.
7. Ishmukhametov, K.T. Radiation-ecological 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.
8. Ishmukhametov, K.T. Radiation and environmental monitoring in the Oryol region / K. T. Ishmukhametov, R. N. Nizamov, I. R. Yunusov, M. Yu. Gallyamova // Bulletin of the Chuvash State Agrarian University. – 2022. – No. 1 (20). – P. 47-50.
9. Nizamov, R.N. Radiation and hygienic examination of objects of veterinary supervision of the Belgorod region / R. N. Nizamov, K. T. Ishmukhametov, I. R. Yunusov, K. N. Vagin, M. Yu. Gallyamova, G. I. Rakhmatullina // Collection of materials of the International scientific and practical conference. Kazan, 2022. – P. 125-129.
10. Rakhmatullina, G.I. Radiation-hygienic examination of veterinary surveillance facilities in the Tula region / G. I. Rakhmatullina, K. N. Vagin, I. R. Yunusov, I. R. Mukhametshin, M. Yu. Gallyamova, K. T. Ishmukhametov // Collection of materials from the international scientific and practical conference dedicated to the memory of Professor H.H. Abdullin. Kazan, 2024. – P. 630-632.
11. Rakhmatullina, G.I. Radiation and hygienic examination of objects of veterinary supervision of the Udmurt Republic / G. I. Rakhmatullina, K. N. Vagin, K. T. Ishmukhametov, R. N. Nizamov, M. Yu. Gallyamova // Collection of reports of the IV International Scientific and Practical Conference. Obninsk, 2021. – P. 143-146.
12. Rakhmatullina, G.I. Radiation and hygienic examination of veterinary surveillance facilities in the Republic of Mari El / G. I. Rakhmatullina, M. Yu. Gallyamova, I. R. Yunusov, K. T. Ishmukhametov, K. N. Vagin // Proceedings of the XVIII International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates, Scientists, Teachers and Practitioners. Tyumen, 2021. – P. 185-189.
13. Rakhmatullina, G.I. Radiation and environmental monitoring in veterinary surveillance facilities of the Kursk region / G. I. Rakhmatullina, K. N. Vagin, M. Yu. Gallyamova, K. T. Ishmukhametov, I. R. Yunusov, V. G. Semenov // Collection of materials of the Third International scientific and practical conference dedicated to the 95th anniversary of the birth of Professor V.A. Kirshin. – 2023. – P. 220-228.
14. Yunusov, I.R. Radiometric assessment of agricultural products in individual agricultural enterprises of the Kaluga region / I. R. Yunusov, K. T. Ishmukhametov, G. I. Rakhmatullina // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic Sciences. – 2023. – Vol. 9, No. 3 (35). – P. 304-310.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

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

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.
The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 29.08.2025;

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 кератоглобуса или кератоконуса, частичной или полной потерей зрения пораженного глаза животного.

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

Экономический ущерб

от заболевания складывается из:

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

**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.**



ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»
представляет 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 остатки;
- медицинские инструменты, просроченные лекарства и вакцины;
- расходные материалы и принадлежности из инфекционных отделений;
- абортные 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



РЕДАКЦИЯ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ЖУРНАЛА «ВЕТЕРИНАРНЫЙ ВРАЧ»

приглашает к сотрудничеству ученых, специалистов, аспирантов и студентов для публикации научных статей. Издание включено в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание научной степени кандидата и доктора наук по специальностям:

- 1.5.1. Радиобиология (биологические и ветеринарные науки)
- 1.5.6. Биотехнология (биологические и ветеринарные науки)
- 1.5.17. Паразитология (биологические и ветеринарные науки)
- 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические и ветеринарные науки).

Журнал зарегистрирован в Российском индексе научного цитирования (РИНЦ, договор № 12-01 от 10.02.2014) и в Российском центре научной информации (РЦНИ); включён в «Белый список» научных изданий, входит в Единый государственный перечень научных изданий (ЕГПНИ).

В редакцию предстаивляются:

- сопроводительное письмо на имя главного редактора журнала на бланке направляющей организации, с подписью руководителя / заместителя руководителя учреждения, электронная версия в формате .pdf;
- сведения об авторах с подписями авторов, электронная версия в формате .pdf;
- электронная версия статьи в редакторе M.Word формате .pdf; файл со статьёй следует называть по фамилии первого автора;
- рецензия на статью от внешнего рецензента (специалиста с учёной степенью доктора или кандидата наук, имеющего наиболее близкую к теме статьи научную специализацию), заверенная печатью, в формате .pdf; файл со статьёй следует называть по фамилии первого автора и рецензента,
- экспертное заключение о возможности опубликования статьи.

Поступившие и принятые к публикации статьи не возвращаются.

Редакция оставляет за собой право не регистрировать статьи, которые не отвечают настоящим требованиям, а также право на воспроизведение материалов (опубликование, тиражирование) без ограничения тиража.

Рукописи статей подвергаются редакционной обработке. Редакция оставляет за собой право вносить изменения, имеющие редакционный характер и не затрагивающие содержания статьи.

Все статьи проходят процедуру рецензирования, по результатам которого редакционная коллегия принимает окончательное решение о целесообразности опубликования.

За содержание статей юридическую и иную ответственность несут авторы. Статьи, направленные в редакцию без выполнения основных требований к публикуемым статьям, не рассматриваются. В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

Обязательна проверка предоставленного авторами материала в системе «Антиплагиат». Уровень оригинальности текста статьи должен быть не ниже 80%. Самоцитирование в журнале не приветствуется, хотя и допускается в случае необходимости (если это оправдано целями и содержанием статьи).

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ

Статьи, направляемые в редакцию научно-производственного журнала «Ветеринарный врач» для публикации, оформляются в соответствии с ГОСТ Р 7.0.7-2021 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу».

Статью составляют в электронном виде в редакторе M. Word в формате doc и pdf. Формат листа А4 с полями: левое, правое, верхнее и нижнее 2 см, шрифт Times New Roman, 11 кегль, межстрочный интервал одинарный. Абзацный отступ 1,25 см (устанавливать через окно «Абзац» (не пробелами и не табуляцией).

Высылается на электронную почту редакции: vetrach@vnivi.ru; объем статьи – не менее 5 страниц. Рукописи статей должны быть тщательно выверены и отредактированы, текст должен быть изложен ясно и последовательно.

Тип статьи - научная статья, персоналии, краткое сообщение - указывают в начале статьи отдельной строкой слева.

Индекс УДК помещают в начале статьи на отдельной строке слева (УДК, соответствующий тематике Вашей статьи, можно выбрать на сайте <https://www.teacode.com/online/udc/>).

Индекс DOI - обязательный международный цифровой идентификатор научной публикации (присваивает редакция журнала).

Заглавие статьи - приводят прописными полужирными буквами, располагают по левому краю, в конце заглавия статьи точку не ставят.

Автор (ы) статьи - приводят строчными буквами и выравнивают по левому краю статьи и содержат:

- имя, отчество, фамилию автора (полностью);
- ученая степень, ученое звание автора;
- электронный адрес автора (без слова «e-mail»), после которого точку не ставят;
- наименование организации (учреждения), где работает или учится автор(ы) (без обозначения организационно-правовой формы юридического лица: ФГБНУ, ФГБОУ ВО, ПАО, АО и т.п.);
- адрес организации (учреждения), где работает или учится автор(ы) (город и страна).

Имена авторов приводят в принятой ими последовательности.

Сведения о месте работы (учёбы), в т.ч. когда автор работает (учится) в нескольких организациях (учреждениях), указывают после имён авторов на разных строках и связывают с именами с помощью надстрочных цифровых обозначений:

Аннотацию формируют по ГОСТ Р 7.0.99. Рекомендуемый объем аннотации 200-250 слов. Перед аннотацией приводят слово «Аннотация» («Abstract»). Не допускается разбивка материала, содержащегося в аннотации, на абзацы и использование вводных слов и оборотов.

Ключевые слова (словосочетания) должны соответствовать теме статьи и отражать её предметную, терминологическую область. Не используют обобщённые и многозначные слова, а также словосочетания, содержащие причастные обороты. Количество ключевых слов (словосочетаний) не должно быть меньше 5 и больше 15 слов (словосочетаний). Их приводят, предваряя словами «Ключевые слова:» («Keywords:»), и отделяют друг от друга запятыми. После ключевых слов точку не ставят.

Благодарности: Если есть необходимость, приводят слова благодарности организациям (учреждениям), научным руководителям и другим лицам, оказавшим помощь в подготовке статьи, сведения о грантах, финансировании подготовки и публикации статьи, проектах, научно-исследовательских работах, в рамках или по результатам, которых опубликована статья.

Эти сведения приводят с предшествующим словом «Благодарности:». На английском языке слова благодарности приводят после ключевых слов на английском языке с предшествующим словом «Acknowledgments:».

Для цитирования: приводится проект библиографической ссылки на статью (ГОСТ Р 7.0.5-2008).

Основной текст статьи может быть структурирован и состоять из следующих частей:

- **введение** с описанием актуальности, цели и задач;
- собственно, текст статьи (с выделением разделов «Материалы и методы», «Результаты исследований»);
- **заключение**, с описанием результатов работы, их практической и научной полезности;

Сведения о финансировании исследования приводятся в сжатом виде со ссылкой на полное название фонда/гранта, с указанием присвоенного номера.

Список источников. Перечень использованных источников помещают после основного текста статьи.

Библиографическую запись для списка составляют по ГОСТ Р 7.0.5-2008.

Библиографические записи в пристатейном библиографическом списке нумеруют и располагают в порядке упоминания в тексте. В библиографических записях допускаются следующие сокращения слов:

Допускаются алфавитный и систематический (в порядке первого упоминания в тексте) способы группировки библиографических записей.

Сведения об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализацию такого конфликта приводят после описания вклада каждого автора.

ЦЕНТР ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Лицензия № 2043
Серия 90.Л01 № 0009077 от 29.03.2016 г.



**По окончанию обучения выдаются диплом и
удостоверение установленного государственного образца**



420075, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2
тел. 8 (843) 239-53-20, 8 (843) 239-71-14
vnivi@mail.ru www.vnivi.ru
Отдел реализации: (843) 239-71-73
e-mail: vnivi-real@mail.ru

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 115 – 120
 The Veterinarian. 2025; (5): 115 – 120

Научная статья
 УДК 619:615.661.718.1
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_115

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕВАМИЗОЛА, ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И Е-СЕЛЕНА В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОРАДИАЦИОННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Алексей Викторович Фролов, доктор биологических наук, *frolov012@list.ru*
 Константин Николаевич Вагин, доктор биологических наук, *kostya9938@yandex.ru*
 Рустам Наилевич Низамов, кандидат ветеринарных наук, *rstm1@yandex.ru*
 Михаил Игоревич Медведев, *mr.mixail777@mail.ru*
 Дамир Леонидович Трофимов, *trofimov.dam@gmail.com*
 Лилия Маратовна Пашанина, *nyssalilya@yandex.ru*

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

Автор, ответственный за переписку: Алексей Викторович Фролов.

Аннотация. В ходе исследований оценивали противорадиационную эффективность левамизола, дигидрокверцетина и Е-селена при острой лучевой болезни. Опыт проводили на белых мышах массой 18–20 г, которых разделили на группы по 10 голов. Левамизол применяли внутримышечно, как лечебно-профилактическое средство – за 3 сут до облучения, сразу после облучения, через 7 и 14 сут после облучения, как лечебное средство – сразу после облучения, через 7 и 14 сут после облучения; дигидрокверцетин внутрижелудочно применяли как профилактическое средство за 10, 7, 3 сут до облучения, как лечебное средство – аналогично левамизолу; Е-селен применяли подкожно по тем же схемам, что и дигидрокверцетин. Моделирование острой лучевой болезни осуществляли путем однократного внешнего гамма-облучения дозе 7,7 Гр. Длительность опыта составила 30 суток. Исследования показали, что препараты левамизол в дозе 0,05 мл/кг, дигидрокверцетин в дозе 16,00 мл/кг, Е-селен в дозе 0,04 мл/кг обладают противорадиационным эффектом в отношении белых мышей: при лечебном применении они обеспечивают выживаемость 30 % (Е-селен) и 60 % (левамизол и дигидрокверцетин) облученных животных (в контрольной группе – 10 %), при профилактическом применении – 40 % (левамизол и дигидрокверцетин) и 50 % (Е-селен). Средняя продолжительность жизни в обоих случаях в опытных группах была выше, чем в контрольной, максимальных значений данный показатель достигал при применении дигидрокверцетина (лечение) и левамизола (профилактика), что подтверждало положительный эффект от применения испытуемых средств.

Ключевые слова: острая лучевая болезнь, дигидрокверцетин, левамизол, Е-селен, белые мыши

Для цитирования: Фролов А. В., Вагин К. Н. Низамов Р. Н., Медведев М. И., Трофимов Д. Л., Пашанина Л. М. Оценка эффективности левамизола, дигидрокверцетина и Е-селена в качестве противорадиационных средств для животных // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 115 – 120. DOI:10.33632/1998-698X_2025_5_115

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF LEVAMISOL, DIHYDROQUERCETIN, AND E-SELENIUM AS ANTI-RADIATION AGENTS FOR ANIMALS

Alexey V. Frolov, doctor of biological sciences, *frolov012@list.ru*
 Konstantin N. Vagin, doctor of biological sciences, *kostya9938@yandex.ru*
 Rustam N. Nizamov, candidate of veterinary sciences, *rstm1@yandex.ru*
 Mihail I. Medvedev, *mr.mixail777@mail.ru*
 Damir L. Trofimov, *trofimov.dam@gmail.com*
 Liliya M. Pashanina, *nyssalilya@yandex.ru*

Corresponding author: Alexey Viktorovich Frolov.

Abstract. The study assessed the antiradiation efficacy of levamisole, dihydroquercetin, and E-selenium in acute radiation sickness. The experiment was conducted on white mice weighing 18–20 g, which were divided into groups of 10 animals. Levamisole was administered intramuscularly as a therapeutic and prophylactic agent 3 days before irradiation, immediately after irradiation, 7 and 14 days after irradiation, as a therapeutic agent immediately after irradiation, 7 and 14 days after irradiation; dihydroquercetin was administered intragastrically as a prophylactic agent 10, 7, and 3 days before irradiation, and as a therapeutic agent similar to levamisole; E-selenium was administered subcutaneously according to the same regimens as dihydroquercetin. Acute radiation sickness was modeled by a single external gamma irradiation dose of 7.7 Gy. The experiment lasted 30 days. The studies showed that levamisole at a dose of 0.05 ml/kg, dihydroquercetin at a dose of 16.00 ml/kg, and E-selenium at a dose of 0.04 ml/kg have an antiradiation effect on white mice: when used therapeutically, they ensured the survival rate of 30% (E-selenium) and 60% (levamisole and dihydroquercetin) of irradiated animals (in the control group - 10%), and when used prophylactically - 40% (levamisole and dihydroquercetin) and 50% (E-selenium). The average life expectancy in both cases in the experimental groups was higher than in the control group, with the maximum values achieved with dihydroquercetin (treatment) and levamisole (prophylaxis), which confirmed the positive effect of the test agents.

Keywords: acute radiation sickness, dihydroquercetin, levamisole, E-selenium, white mice

Введение. Начиная с сороковых годов двадцатого века неоднократно случались чрезвычайные ситуации, связанный с радиоактивным загрязнением местности, что становилось причиной ухудшения состояния здоровья, гибели человека и животных [1–4]. В последнее время использование источников ионизирующего излучения в разных сферах деятельности – энергетике, медицине, военном деле – постоянно расширяется, что повышает риск повторения таких ситуаций. Напряженность в международных отношениях дополнительно осложняет ситуацию.

В связи с вышеизложенным не теряет актуальности вопрос разработки средств защиты от радиационного поражения, в том числе – противорадиационных препаратов, снижающих негативные последствия воздействия ионизирующего излучения на живые организмы. Несмотря на значительное разнообразие таких средств [5–7], применение их в случае необходимости может оказаться затруднительным, так как большинство из них мало представлены в торговой сети, дороги. Это обуславливает актуальность цели исследований – на основе сведений о механизме развития лучевой болезни [8] отобрать из числа широко распространенных средств такие, которые могут обладать противорадиационным эффектом, и оценить их эффективность в качестве средств профилактики и лечения при лучевой болезни.

Материалы и методы. На основе анализа данных научных публикаций и результатов ранее проведенных исследований для проведения экспериментов по оценке радиозащитного действия были отобраны препараты: левамизол, дигидрокверцетин, Е-селен.

Левамизол обладает свойствами иммуномодулятора: при разных иммунодефицитных состояниях проявляет как иммуностимулирующие, так и иммуносупрессивные свойства [9, 10]. Левамизол применяли в виде 10 % раствора.

Дигидрокверцетин – полифенол, флавоноид из группы кверцетина, препарат натурального происхождения, получаемый из комлевой части деревьев хвойных пород. Имеются сведения о его положительном влиянии на организм сельскохозяйственных животных за счет антиоксидантного, иммуномодулирующего действия [11, 12]. Дигидрокверцетин применяли в виде 10 % водного раствора.

Е-селен – комплексный витаминно-микроэлементный препарат. Есть данные о его положительном влиянии на гемопоэз сельскохозяйственной птицы [13], процессы перекисного окисления липидов и систему антиоксидантной защиты свиней [14].

Противорадиационную эффективность выше перечисленных средств оценивали в опыте на белых мышах массой 18–20 г. Подопытные мыши были размещены в условиях специализированного вивария с обеспечением свободного доступа к стандартному рациону и воде. По завершении карантина здоровые животные методом случайного распределения были разделены на группы по 10 голов.

Моделирование острой лучевой болезни осуществляли путем однократного внешнего облучения на гамма-установке «Пума» с источником излучения ^{137}Cs в дозе 7,7 Гр. Оценку эффективности испытуемого препарата проводили путем анализа клинических проявлений ОЛБ, показателей 30-

суточной выживаемости и средней продолжительности жизни (СПЖ). Длительность опыта составила 30 суток.

Исследования проводили согласно существующим правилам работ с использованием экспериментальных животных и Европейской конвенцией по их защите. В работе применяли радиобиологические методы исследования [15]. Схема опыта представлена в таблице 1.

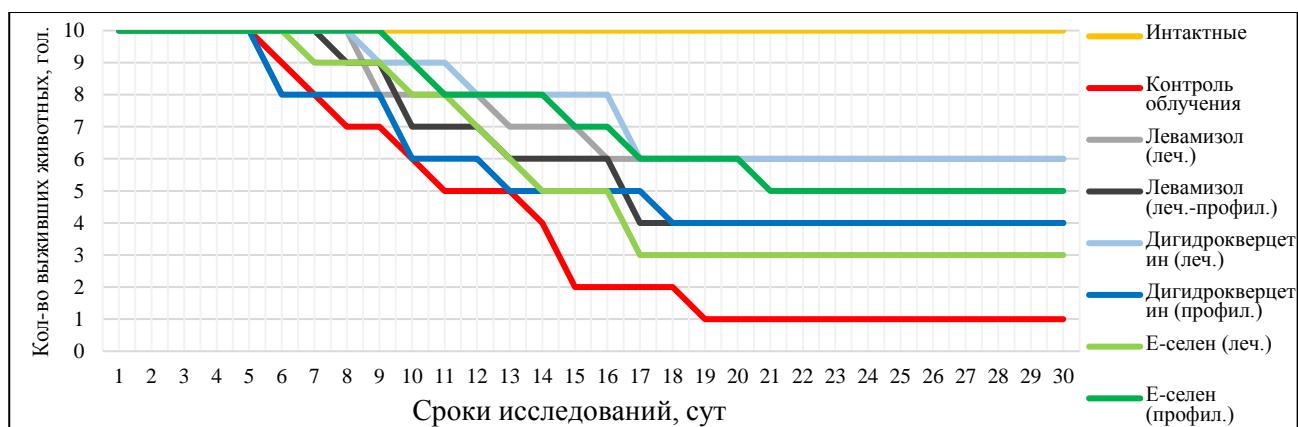
Таблица 1 – Схема опыта

Группа опыта	Описание группы опыта	Доза препарата	Способ введения	Схема применения			
1	Интактные	–	–	–			
2	Контроль облучения	–	–	–			
3	Левамизол	0,05 мл/кг	в/м	За 3 сут до облучения, сразу после облучения, через 7 и 14 сут после облучения			
4				Сразу после облучения, через 7 и 14 сут после облучения			
5	Дигидрокверцетин	16,00 мл/кг	в/ж	За 10, 7, 3 сут до облучения			
6				Сразу после облучения, через 7 и 14 сут. после облучения			
7	Е-селен	0,04 мл/кг	п/к	За 10, 7, 3 сут до облучения			
8				Сразу после облучения, через 7 и 14 сут после облучения			
Примечания							
в/м – внутримышечно							
в/ж – внутрижелудочно							
п/к - подкожно							

Полученный цифровой материал подвергали обработке с использованием общепринятых методов с применением программы Microsoft Excel (2016).

Результаты исследований. В ходе опыта у облученных мышей отмечали угнетение, диарею, снижение массы тела, геморрагический синдром. В опытных группах были те же изменения, но менее выраженные, к концу опыта у выживших отмечали тенденцию к восстановлению. В интактной группе все животные выжили. Картина смертности животных в ходе опыта представлена на рисунке 1.

Рисунок 1 – Динамика смертности белых мышей, подвергнутых гамма-облучению, на фоне действия испытуемых средств

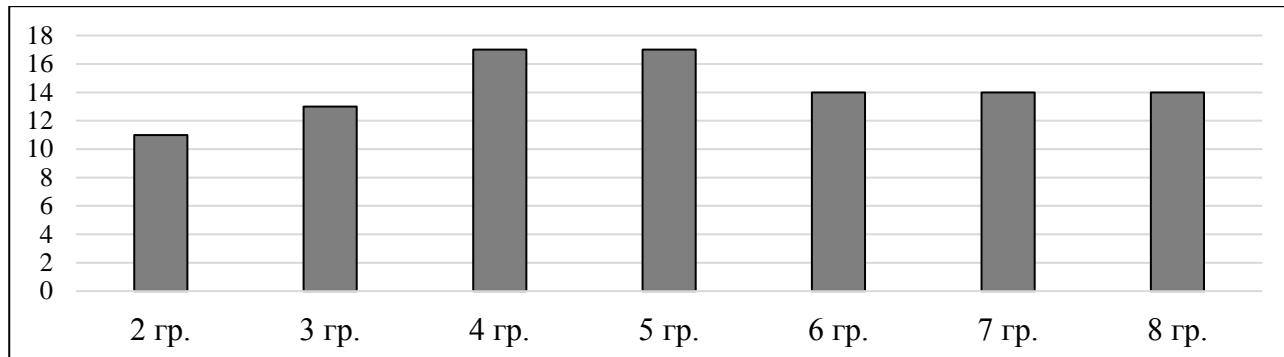


Как видно из графика, при лечебном применении испытуемых средств выживаемость мышей отличалась от таковой в группе контроля облучения: наиболее эффективны оказались левамизол и дигидрокверцетин – на фоне их применения выживаемость составила 60 %, менее эффективен – Е-

селен – 30 %. В контрольной группе значение данного показателя составило 10 %. Картина смертности в разных группах различалась несущественно, была типична для острой лучевой болезни.

При профилактическом применении испытуемых средств выживаемость в контрольных группах различалась менее существенно, но также значительно превосходила контрольное значение: максимальный положительный эффект показал Е-селен – 50 %, левамизол и дигидрокверцетин обеспечили выживаемость 40 %. Сроки гибели животных были близки к таковым при лечебном применении и также различались в разных группах несущественно. На рисунке 2 представлены значения средней продолжительности жизни погибших животных.

Рисунок 2 – Средняя продолжительность жизни белых мышей, подвергнутых гамма-облучению, на фоне действия испытуемых средств, сут



Как видно на диаграмме, средняя продолжительность жизни в обоих случаях в опытных группах была выше, чем в контрольной. Максимальных значений данный показатель достигал при применении дигидрокверцетина (лечение) и левамизола (профилактика), что подтверждало положительный эффект от применения испытуемых препаратов.

Заключение. Результаты исследований позволяют заключить, что препараты левамизол в дозе 0,05 мл/кг, дигидрокверцетин в дозе 16,00 мл/кг, Е-селен в дозе 0,04 мл/кг обладают противорадиационным эффектом в отношении белых мышей, подвергнутых гамма-облучению в дозе 7,7 Гр – обеспечивают более высокие значения показателей выживаемости и средней продолжительности жизни животных после облучения; левамизол и дигидрокверцетин наиболее эффективны при лечебном применении, Е-селен – при профилактическом.

Финансирование исследования. Работа выполнена в соответствии с Государственным заданием по теме «Разработка схемы совместного применения противорадиационных препаратов для лечения животных при острой лучевой болезни», номер гос. регистрации: 1024101500015-0.

Список источников

1. Шершакова, В.М. Радиационная обстановка на территории России и сопредельных государств в 2022 году. Ежегодник / Под ред. В.М. Шершакова, В.Г. Булгакова, И.И. Крышева и др. – НПО «Тайфун». - Обнинск, 2023. – 342 с.
2. Рылов М.И. Радиационная география России как объект системного исследования: в 2т. Т.1: иллюстрированное справочно-информационное издание / М. И. Рылов, М. И. Тихонов. – Санкт-Петербург: ООО «Пресс-Сервис», 2014. – 220 с.
3. Атлас современных и прогностических аспектов последствий аварии на Чернобыльской АЭС на пострадавших территориях России и Беларусь (АСПА Россия-Беларусь) / Под. Ред. Ю. А. Израэля и И. М. Богдевича. – Москва-Минск : Фонд «Инфосфера»-НИА-Природа, 2009. – 140 с.
4. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. М. - 340 с.
5. Низамов, Р. Н. Радиозащитная эффективность натуральной биологически активной кормовой добавки «Вита-Форце М» / Р. Н. Низамов // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2015. – № 3. – С. 156–158.
6. Низамов, Р. Н. Радиозащитные композиции на основе продуктов метаболизма *E. Coli* / Р. Н. Низамов // Ветеринарный врач. – 2013. – № 4. – С. 25–27.

7. Вагин, К.Н. Конструирование радиозащитных препаратов на основе веществ микробного, животного и неорганического происхождения / К.Н. Вагин, Р.Н. Низамов, К.Т. Ишмухаметов // Материалы Международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, посвященной 125-летию со дня рождения В.С. Немчинова. – Москва, 2019. – С. – 84-87.
8. Кудряшов, Ю.Б. Современные проблемы противолучевой химической защиты / Ю.Б. Кудряшов // Радиоэкология. – 1998. – Т. 39 (2-3). – С. 197-211.
9. Тарасова, Е.Ю. Оценка объективных морфологических признаков митохондрий гепатоцитов крыс при сочетанном микотоксикозе на фоне применения профилактических комплексов / Е.Ю. Тарасова, Г.С. Кашеваров, В.Р. Сайтов, Л.Е. Матросова // Вестник КрасГАУ. – 2022. – № 12 (189). – С. 98-105.
10. Тарасова Е.Ю. Оценка липидного профиля при моделировании т-2, афлаи зеараленонтоксикоза белых крыс на фоне применения профилактических комплексов / Е.Ю. Тарасова, Л.Е. Матросова, С.А. Танасева, О.К. Ермолаева // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2023. – Т. 9. – № 3 (35). – С. 298-303.
11. Бизюк, Л. А. Антиоксидант дигидрокверцетин: клинико-фармакологическая эффективность и пути синтеза / Л. А. Бизюк, М. П. Королевич // Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. – 2013. – № 1(29). – С. 13-19. – EDN UCNTCN.
12. Дедов, Д. В. Дигидрокверцетин (таксифолин): фармакологическое действие и возможность применения у больных с COVID-19 / Д. В. Дедов // Фармация. – 2023. – Т. 72, № 2. – С. 6-9. – DOI 10.29296/25419218-2023-02-01. – EDN VPGBIP.
13. Кузьмина, Н. Н. Влияние современного антиоксиданта флавоноидной группы дигидрокверцетин на гематологические показатели цыплят -бройлеров / Н. Н. Кузьмина, О. Ю. Петров, С. Ю. Смоленцев // Ветеринарный врач. – 2020. – № 2. – С. 14-20. – DOI 10.33632/1998-698X.2020-2-14-20. – EDN ASTLCF.
14. Слипченко, С. Н. Влияние препаратов БСМ и "Е-селен" на перекисное окисление липидов у свиней / С. Н. Слипченко, А. А. Сурков // Вестник ветеринарии. – 2008. – № 1(44). – С. 60-62. – EDN JTWSR.
15. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – Москва: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.: ил.

References

1. Shershakova, V.M. Radiation situation in Russia and adjacent countries in 2022. Yearbook / Ed. by V.M. Shershakov, V.G. Bulgakov, I.I. Kryshev, et al. – NPO "Typhoon". - Obninsk, 2023. – 342 p.
2. Rylov, M.I. Radiation geography of Russia as an object of systems research: in 2 volumes. Vol. 1: illustrated reference and information publication / M.I. Rylov, M.I. Tikhonov. – St. Petersburg: OOO "Press-Service", 2014. – 220 p.
3. Atlas of modern and prognostic aspects of the consequences of the accident at the Chernobyl nuclear power plant in the affected territories of Russia and Belarus (ASPA Russia-Belarus) / Ed. Yu. A. Izrael and I. M. Bogdevich. - Moscow-Minsk: Infosfera Foundation-NIA-Priroda, 2009. - 140 p.
4. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2022: State report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2023. Moscow. - 340 p.
5. Nizamov, R. N. Radioprotective efficiency of the natural biologically active feed additive "Vita-Force M" / R. N. Nizamov // Bulletin of the Russian Military Medical Academy. - 2015. - No. 3. - P. 156-158.
6. Nizamov, R. N. Radioprotective compositions based on E. Coli metabolic products / R. N. Nizamov // Veterinarian. – 2013. – No. 4. – P. 25-27.
7. Vagin, K.N. Design of Radioprotective Drugs Based on Substances of Microbial, Animal, and Inorganic Origin / K.N. Vagin, R.N. Nizamov, K.T. Ishmukhametov // Proceedings of the International Scientific Conference of the Faculty Dedicated to the 125th Anniversary of the Birth of V.S. Nemchinov. – Moscow, 2019. – P. – 84-87.
8. Kudryashov, Yu.B. Modern Problems of Radiation Chemical Protection / Yu.B. Kudryashov // Radioecology. – 1998. – Vol. 39 (2-3). – P. 197-211.
9. Tarasova, E.Yu. Evaluation of objective morphological features of mitochondria of rat hepatocytes in combined mycotoxicosis with the use of prophylactic complexes / E. Yu. Tarasova, G. S. Kashevarov, V. R. Saitov, L. E. Matrosova // Bulletin of KrasSAU. - 2022. - No. 12 (189). - P. 98-105.

10. Tarasova E. Yu. Evaluation of the lipid profile in modeling T-2, aflai and zearalenone toxicosis in white rats with the use of prophylactic complexes / E. Yu. Tarasova, L. E. Matrosova, S. A. Tanaseva, O. K. Ermolaeva // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic Sciences. - 2023. - Vol. 9. - No. 3 (35). - P. 298-303.
11. Bizyuk, L. A. Antioxidant dihydroquercetin: clinical and pharmacological efficacy and routes of synthesis / L. A. Bizyuk, M. P. Korolevich // General Medicine: scientific and practical therapeutic journal. - 2013. - No. 1 (29). - Pp. 13-19. - EDN UCNTCN.
12. Dedov, D. V. Dihydroquercetin (taxifolin): pharmacological action and possibility of use in patients with COVID-19 / D. V. Dedov // Pharmacy. - 2023. - Vol. 72, No. 2. - Pp. 6-9. - DOI 10.29296/25419218-2023-02-01. - EDN VPGBIP.
13. Kuzmina, N. N. Effect of the modern antioxidant of the flavonoid group dihydroquercetin on the hematological parameters of broiler chickens / N. N. Kuzmina, O. Yu. Petrov, S. Yu. Smolentsev // Veterinary doctor. - 2020. - No. 2. - Pp. 14-20. - DOI 10.33632/1998-698X.2020-2-14-20. - EDN ASTLCF.
14. Slipchenko, S. N. Effect of the drugs BSM and "E-selenium" on lipid peroxidation in pigs / S. N. Slipchenko, A. A. Surkov // Bulletin of Veterinary Medicine. - 2008. - No. 1 (44). - Pp. 60-62. - EDN JTWSR.
15. Guide to experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / edited by Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, Professor R.U. Khabriev. - 2nd ed., revised and enlarged. - Moscow: OJSC "Izdatelstvo" Medicine ", 2005. - 832 p.: ill.

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 03.10.2025;

© Фролов А. В, Вагин К.Н., Низамов Р.Н., Медведев М.И., Трофимов Д.Л., Пашанина Л.М. 2025

Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 121 – 127
 The Veterinarian. 2025; (5): 121 – 127

Научная статья
 УДК 619:612.085.2:615.33:579.864
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_121

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА *IN VIVO* ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕПЕРЕВАРИВАЕМЫХ
 УГЛЕВОДОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРОБИОТИКА НА ОСНОВЕ ШТАММА
LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM AS-41**

Ришат Салаватович Мухаммадиев, кандидат биологических наук, *tashir9891@mail.ru*
 Ринат Салаватович Мухаммадиев, кандидат биологических наук, *tanirtashir@mail.ru*
 Гульнара Ильдусовна Хусаинова, кандидат биологических наук, *vnivi@mail.ru*
 Диана Анатольевна Сорокина, *diana-sorokina2013@mail.ru*
 Ильшат Рафаилевич Фазулзянов, кандидат биологических наук, *fazulrif@mail.ru*
 Рафкат Искандарович Шангараев, кандидат ветеринарных наук, *rafkat.shangaraev@mail.ru*

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань,
 Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку: Ришат Салаватович Мухаммадиев.

Аннотация. Современная позиция на коррекцию нарушений баланса индигенной микробиоты кишечника сельскохозяйственных животных предполагает использование пробиотиков и пребиотиков, а также стратегий с их применением. В последние годы в животноводстве отмечается тенденция к переходу на использование синбиотиков как приоритетных средств профилактики и лечения дисбиотических состояний животных. В настоящей работе проведено сравнительное экспериментальное изучение *in vivo* пребиотических свойств неперевариваемых углеводов при применении пробиотика, содержащей штамм *Lactiplantibacillus plantarum* AS-41, на модели антибиотик-ассоциированного дисбиоза. Пребиотическими факторами служили целлюлоза, лактулоза, пшеничное волокно, резистентный крахмал, фруктоолигосахариды и инулин. Установлено, что все исследуемые неперевариваемые углеводы совместно с разработанным пробиотиком оказывают позитивное влияние по отношению к основным представителям кишечной микробиоты крыс, что выражается в увеличении ($p<0,05$) численности молочнокислых бактерий относительно контроля (указанного показателя животных, которых содержали на стандартном рационе). Наилучшие результаты лечения дисбиоза нами достигнуты в группе животных, которым одновременно с пробиотиком в рацион вносили лактулозу или инулин в качестве пребиотического фактора. В кишечнике указанных групп животных общая численность микроорганизмов было выше ($p<0,05$) в 973 и 197 раз, количество молочнокислых бактерий - в 603 и 204 раза, кишечной палочки - в 448 и 347 раза по сравнению с контролем соответственно. Полученные результаты открывают перспективу создания синбиотика на основе лактулозы/инулина и штамма *L. plantarum* AS-41 для животноводства.

Ключевые слова: неперевариваемые углеводы, пробиотик, *Lactiplantibacillus plantarum*, эффективность, *in vivo*, животноводство

Для цитирования: Мухаммадиев Риши.С., Мухаммадиев Рин.С., Хусаинова Г.И., Сорокина Д.А., Фазулзянов И.Р., Шангараев Р.И. Сравнительная оценка *in vivo* эффективности неперевариваемых углеводов при применении пробиотика на основе штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AS-41 // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 121 – 127. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_121

**A COMPARATIVE *IN VIVO* EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF NON-DIGESTIBLE
 CARBOHYDRATES USING PROBIOTIC BASED ON THE STRAIN
LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM AS-41**

Rishat S. Mukhammadiev, candidate of biological sciences, *tashir9891@mail.ru*
 Rinat S. Mukhammadiev, candidate of biological sciences, *tanirtashir@mail.ru*

Gulnara I. Khusainova, candidate of biological sciences, vnivi@mail.ru

Diana A. Sorokina, diana-sorokina2013@mail.ru

Ilshat R. Fazulzyanov, candidate of biological sciences, fazulrif@mail.ru

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

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

Corresponding author: Rishat Salavatovich Mukhammadiev.

Abstract. The current approach to correcting the intestinal microbiota of farm animals involves the use of probiotics and prebiotics, as well as strategies for their use. In recent years, there has been a trend in animal husbandry towards the use of synbiotics as a priority means of preventing and treating dysbiotic conditions in animals. In this work, a comparative *in vivo* study of the prebiotic properties of non-digestible carbohydrates was carried out using a probiotic containing the *Lactiplantibacillus plantarum* strain AS-41 in a model of antibiotic-associated dysbiosis. The prebiotic factors included cellulose, lactulose, wheat fiber, resistant starch, fructooligosaccharides, and inulin. All the studied non-digestible carbohydrates, together with the developed probiotic, have a positive effect on the main representatives of the intestinal microbiota of rats, which is expressed in an increase ($p < 0.05$) in the number of lactic acid bacteria relative to the control (the specified indicator of animals kept on a standard diet). We achieved the best results in treating dysbiosis in a group of animals that were given lactulose or inulin as a prebiotic factor in their diet along with the probiotic. In the intestines of these animal groups, the total microbial count was 973- and 197-fold higher ($p < 0.05$), lactic acid bacteria were 603- and 204-fold higher, and *Escherichia coli* were 448- and 347-fold higher, respectively, compared to the control group. The obtained results open up the prospect of creating a synbiotic based on lactulose/inulin and the *L. plantarum* strain AS-41 for animal husbandry.

Keywords: non-digestible carbohydrates, probiotic, *Lactiplantibacillus plantarum*, efficacy, *in vivo*, animal husbandry

Введение. Одна из наиболее сложно решаемых современных проблем ветеринарной медицины являются дисбиотические нарушения, вызванные различными факторами и обусловленные изменением качественного и количественного состава микробиоты макроорганизма [1, 2]. К настоящему времени мировым сообществом доказана существенная роль кишечной микробиоты в обеспечении гомеостаза организма млекопитающих [3, 4]. Приводящий к снижению антагонистического и метаболического потенциала микроорганизмов дисбактериоз способен вызывать вторичные осложнения животных, которые связаны с нарушениями их иммунитета и метаболизма [1, 4]. В связи с тем, что механизмы возникновения и развития изменений баланса микробной экосистемы кишечника многообразны, потребность в разработке подходов, включающих большинство звеньев указанного заболевания, для ветеринарной медицины до сих пор актуальна.

Современная позиция на коррекцию нарушений баланса индигенной (собственной) микробиоты кишечника сельскохозяйственных животных предполагает использование пробиотиков и пре-биотиков, а также стратегий с их применением [5, 6]. В последние годы среди различных средств лечения дисбактериоза приоритет отдается синбиотикам - искусственно сконструированным препаратам, содержащим безопасные для макроорганизма активные штаммы пробиотических микроорганизмов и структурные их компоненты, органические кислоты, аминокислоты, пептиды, ферменты, антиоксиданты, а также неперевариваемые углеводы, или пищевые волокна [7, 8]. Согласно исследованиям зарубежных авторов, пребиотические компоненты синбиотиков способны формировать кишечный микробиом с наиболее полным разнообразием бактерий-симбионтов, обеспечивающих высокий уровень колонизационной, противоинфекционной и антитоксической резистентности макроорганизма [7, 9].

Для расширения ассортимента средств, которые нормализируют кишечную микробиоту сельскохозяйственных животных, на рынке пробиотиков и пребиотиков России необходимо проводить комплексные исследования к проектированию рецептуры препарата, содержащих полезные штаммы микроорганизмов, структурные их компоненты, а также пищевые волокна, полисахариды и другие биологически активные соединения, и осуществлять оценку эффективности их функционального влияния в составе полученного продукта.

Цель исследования – сравнительное оценка *in vivo* эффективности неперевариваемых углеводов при применении пробиотика на основе штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AS-41 для возможности создания синбиотика для животноводства.

Материалы и методы. В работе использован разработанный в Федеральном центре токсикологической, радиационной и биологической безопасности (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», Россия) экспериментальный образец пробиотика на основе штамма *L. plantarum* AS-41. Пребиотическими факторами служили целлюлоза (J. Rettenmaier & Sohne GmbH+Co, Германия), лактулоза (Watt Nutrition, Россия), пшеничное волокно (J. Rettenmaier & Sohne GmbH+Co, Германия), резистентный крахмал (Funksjonell Mat, Норвегия), фруктоолигосахариды (Beneo-Orafti, Бельгия) и инулин (Beneo-Orafti, Бельгия).

Сравнительную экспериментальную оценку пребиотических свойств пищевых волокон (неперевариваемых углеводов) при применении пробиотика осуществляли на 35 самцах белых крыс линии Wistar с массой 265-285 г (из вивария ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), на модели антибиотик-ассоциированного дисбиоза [10]. Эксперименты осуществляли, опираясь на требования ГОСТ 33216-2014 и Директивы 2010/63/EU.

Индукцию дисбактериоза у крыс проводили *per os* введением последним гентамицина сульфата (НПО «Микроген», Россия) в дозе, указанной нами ранее в работе [11]. После прекращения применения антибиотика экспериментальных животных разделяли на 7 равных групп:

- Группа 1 (опытная) – животные, которые ежедневно получали пробиотик из расчета $(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^8$ КОЕ/гол и целлюлозу в качестве пребиотического фактора ($n = 5$).
- Группа 2 (опытная) – животные, которые ежедневно получали пробиотик из расчета $(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^8$ КОЕ/гол и лактулозу ($n = 5$).
- Группа 3 (опытная) – животные, которые ежедневно получали пробиотик из расчета $(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^8$ КОЕ/гол и пшеничную клетчатку ($n = 5$).
- Группа 4 (опытная) – животные, которые ежедневно получали пробиотик из расчета $(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^8$ КОЕ/гол и резистентный крахмал ($n = 5$).
- Группа 5 (опытная) – животные, которые ежедневно получали пробиотик из расчета $(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^8$ КОЕ/гол и фруктоолигосахариды ($n = 5$).
- Группа 6 (опытная) – животные, которые ежедневно получали пробиотик из расчета $(1,8 \pm 0,3) \cdot 10^8$ КОЕ/гол и инулин ($n = 5$).
- Группа 7 (контроль, группа самовосстановления) – животные, которым после введения антибиотика кормили стандартным рационом ($n = 5$).

Крысам опытных групп 2-6 к основному (стандартному) рациону вносили пищевые волокна в количестве 40 г на кг корма. Животным предоставляли рацион и питьевую воду в режиме свободного и неограниченного доступа.

Забор фекальных масс подопытных крыс для количественного выявления групп микроорганизмов осуществляли по окончании эксперимента (8 сутки).

Количественное выявление микробных групп в фекальных массах проводили способом последовательных 10-кратных разведений с последующим переносом последних в указанных нами ранее питательные среды [11].

Полученные экспериментальные данные оформляли в виде диаграмм и таблиц, обрабатывали статистической программой Microsoft Office 2016. В работе применяли *t*-критерий Стьюдента, достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Для сравнительной оценки эффективности различных пищевых волокон и возможности включения последних в состав синбиотика применяли подход, который заключается в *per os* введении животным с антибиотик-ассоциированным дисбиозом пробиотика на основе штамма *L. plantarum* AS-41 и внесении в состав основного рациона неперевариваемых углеводов, а именно, целлюлозы, лактулозы, пшеничного волокна, резистентного крахмала, фруктоолигосахаридов и инулина.

В результате *per os* введения антибиотика гентамицина сульфата выявлено угнетение представителей нормальной кишечной микробиоты крыс опытных и контрольной групп в одинаковой степени, что, прежде всего, выражалось в статистически достоверном ($p < 0,05$) снижении уровня молочнокислых бактерий (таблица).

После использования указанного аминогликозидного антибиотика у животных наблюдали вялость или беспокойство, снижение аппетита и массы тела, метеоризм, жидкую консистенцию фекалий. Полученные данные свидетельствуют о развитии у животных дисбиоза, подтверждая успешность выбранной модели для изучения эффективности средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника. Аналогичные результаты были установлены отечественными исследователями [10] и нами ранее [11] при применении гентамицина сульфата для индукции дисбиоза у крыс.

Таблица – Оценка численности микроорганизмов в содержимом кишечника белых крыс после использования гентамицина сульфата*

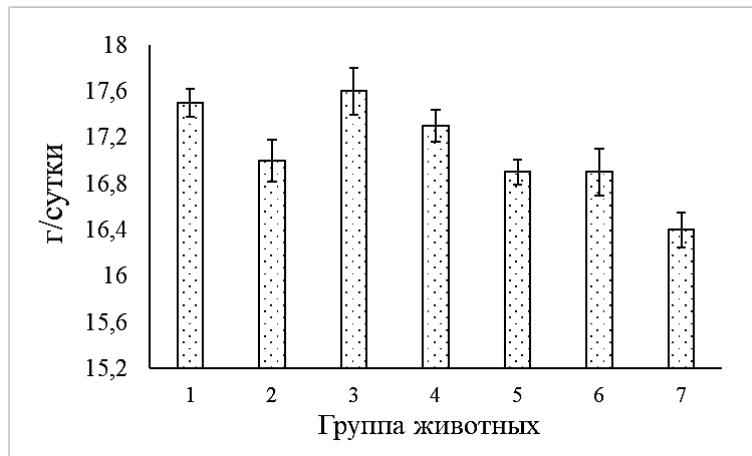
Группа животных	Показатели, КОЕ/г фекалия**		
	ОЧМ	МБ	КП
1 (n = 5)	(1,6 ± 0,4) x 10 ⁵	(2,1 ± 0,3) x 10 ⁴	(3,4 ± 0,2) x 10 ²
2 (n = 5)	(1,4 ± 0,2) x 10 ⁵	(2,3 ± 0,4) x 10 ⁴	(3,6 ± 0,4) x 10 ²
3 (n = 5)	(1,6 ± 0,3) x 10 ⁵	(2,0 ± 0,3) x 10 ⁴	(3,5 ± 0,4) x 10 ²
4 (n = 5)	(1,5 ± 0,3) x 10 ⁵	(2,4 ± 0,2) x 10 ⁴	(3,1 ± 0,3) x 10 ²
5 (n = 5)	(1,7 ± 0,4) x 10 ⁵	(2,2 ± 0,2) x 10 ⁴	(3,3 ± 0,2) x 10 ²
6 (n = 5)	(1,3 ± 0,3) x 10 ⁵	(2,1 ± 0,4) x 10 ⁴	(3,2 ± 0,4) x 10 ²
7 (n = 5)	(1,5 ± 0,2) x 10 ⁵	(2,0 ± 0,3) x 10 ⁴	(3,4 ± 0,3) x 10 ²

*представлены результаты до начала применения неперевариваемых углеводов и пробиотика

**ОЧМ - общая численность микроорганизмов, МБ - молочнокислые бактерии, КП - кишечная палочка

В группах крыс 1-6, получавших комбинацию неперевариваемых углеводов и разработанного пробиотика, нами отмечены позитивные изменения в показателях потребления корма (рисунок 1) и численности микроорганизмов содержимого кишечника (рисунок 2).

Рисунок 1 – Потребление рационов белыми крысами с индуцированным антибиотиком дисбиозом на фоне применения неперевариваемых углеводов и пробиотика на основе *L. plantarum* AS-41



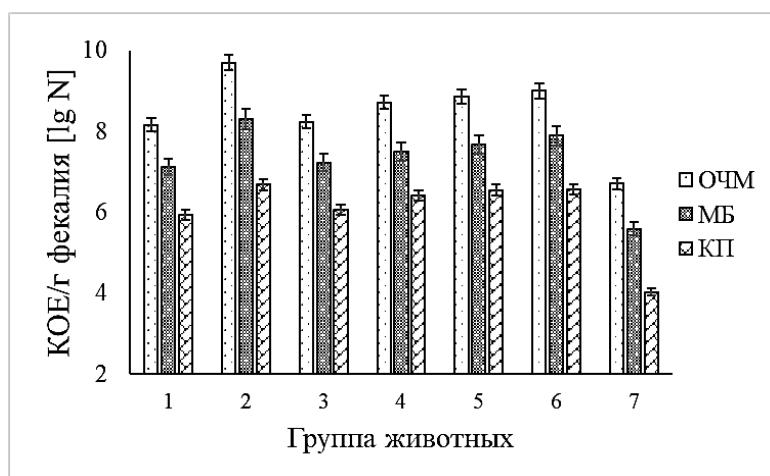
Сравнительная оценка уровня поедаемости рационов животными показала следующее: в группе 1, 2, 3, 4, 5 и 6 количество потребляемого корма было выше (p<0,05) соответственно на 6,7, 3,7, 7,3, 5,5, 3,1 и 3,1 % относительно группы 7 (контроль). Наблюданное восстановление аппетита крыс опытных групп, скорее всего, обусловлено нормализацией функций их пищеварительного тракта. Показано, что содержание кишечных микроорганизмов значительно нарастает (p<0,05) в фекальных массах животных, получавших использованные в настоящем исследовании неперевариваемые углеводы совместно с разработанным пробиотиком (рисунок 2).

Наилучшие результаты лечения дисбиоза нами достигнуты в группе животных 2 и 6, которым одновременно с пробиотиком в рацион вносили лактулозу и инулин в качестве пребиотических факторов. В группах 2 и 6 ОЧМ было выше (p<0,05) в 973 и 197 раз, численность МКБ - в 603 и 203 раза, КП - в 448 и 347 раза по сравнению с контролем соответственно.

Следует отметить, что фруктоолигосахариды в сочетании с разработанным пробиотиком уступили по эффективности комбинации пробиотика и лактулозы/инулина, тем не менее, весьма эффективно восстанавливали ОЧМ, количество МБ и КП в кишечнике подопытных животных.

Известно, что лактулозу и инулин повышают численность популяции бактерий толстого кишечника, в частности, *Bifidobacterium* sp. и *Lactobacillus* sp., способных продуцировать короткоцепочечные жирные кислоты, снижать pH кишечника и, таким образом, способствовать конкурентному исключению патогенов [7, 12].

Рисунок 2 – Содержание кишечных микроорганизмов белых крыс с индуцированным антибиотиком дисбиозом на фоне применения неперевариваемых углеводов и пробиотика на основе *L. plantarum* AS-41*



*OCM - общая численность микроорганизмов, МБ - молочнокислые бактерии, КП - кишечная палочка

Оценка физического состояния крыс показала отсутствие признаков расстройства органов пищеварения у животных, которые ежедневно в течение эксперимента получали комбинацию пробиотика и лактулозы/инулина. Таким образом, при использовании неперевариваемых углеводов лактулозы или инулина совместно с разработанным пробиотиком отмечали наиболее высокую способность к восстановлению кишечной микробиоты животных по сравнению с таковой в контроле. Учитывая полученные данные, в качестве пробиотической составляющей кормового синбиотика, содержащей штамм *L. plantarum* AS-41, нами были выбраны лактулозу и инулин.

Заключение. Целлюлоза, лактулоза, пшеничное волокно, резистентный крахмал, фруктоолигосахариды и инулин в сочетании с пробиотиком на основе штамма *L. plantarum* AS-41 оказывают позитивное влияние по отношению к основным представителям кишечной микробиоты крыс с гентамицин-ассоциированным дисбиозом, что, прежде всего, выражается в увеличении численности молочнокислых бактерий относительно контроля (указанного показателя животных, которых содержали на стандартном рационе). Наилучшие результаты лечения дисбиоза нами получены в группе животных, которым совместно с разработанным пробиотиком в рацион вносили лактулозу или инулин.

Список источников

1. Мухаммадиев Р.С., Мухаммадиев Р.С., Валиуллин Л.Р., Барышев М.Г., Каримуллина И.Г., Яковлев С.И., Яруллин А.И. Новый подход с использованием пробиотика, метабиотика и бактериальных ферментов для коррекции вызванных действием патогенных факторов микроэкологических нарушений кишечника молодняка сельскохозяйственной птицы // Ветеринария Кубани. – 2024. – № 1. – С. 14-20. doi: 10.33861/2071-8020-2024-1-14-20.
2. Мухаммадиева А.С., Мухаммадиев Р.С., Мухаммадиев Р.С., Валиуллин Л.Р. Пробиотические препараты как современный способ лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний животных // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. – 2021. – № 23. – С. 544-546.
3. Li A., Kiani F.A., Liao J., Liu F., Chang Y.F. The role of gut microbiota in animal gastrointestinal diseases // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2025. – Vol. 15. – 1554277. doi: 10.3389/fcimb.2025.1554277.
4. Wang L., Hu C., Fan M.Z. The role of nutritional strategies in the regulation of gut microbiota and host immune system // Front. Microbiol. – 2024. – Vol. 15. – 1501596. doi: 10.3389/fmicb.2024.1501596.
5. Silvestro S., Biondo C., Midiri A., Lucia B., Mancuso G. The role of livestock antibiotic use in microbiota dysbiosis and neuroinflammation // Antibiotics. – 2025. – Vol. 14. – N 6. – pp. 608-634. doi: 10.3390/antibiotics14060608.
6. Мухаммадиев Р.С., Мухаммадиев Р.С., Скворцов Е.В., Идиятов И.И., Валиуллин Л.Р. Исследование цитотоксичности молочнокислых и пропионовокислых бактерий в teste *in vitro* // Ветеринарный врач. – 2019. – № 4. – С. 17-20. doi: 10.33632/1998-698X.2019-4-17-21.

7. Yue T., Lu Y., Ding W., Xu B., Zhang C., Li L., Jian F., Huang S. The role of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics in livestock and poultry gut health: a review // *Metabolites*. – 2025. – Vol. 15. – N 7. – pp. 478-509. doi: 10.3390/metabo15070478.
8. Неминущая Л.А., Павленко И.В., Казаку А.А., Скотникова Т.А., Фролов Ю.Д. Инновационные синбиотики для сельскохозяйственных животных и птицы // *Ветеринарный врач*. – 2023. – № 1. – С. 42-50. doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_42.
9. Markowiak P., Śliżewska K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition // *Gut Pathog.* – 2018. – Vol. 10. – pp. 21-41. doi: 10.1186/s13099-018-0250-0.
10. Bondareva N.I., Timchenko L.D., Dobrynya Yu.M., Alieva E.V., Rzhepakovskiy I.V., Likhacheva E.S., Sizonenko M.N., Piskov S.I., Kozlova M.A., Areshidze D.A. Influence of biologically active substances from kombucha (*Medusomyces gisevii*) on rat gut microbiota with experimental antibiotic-associated dysbiosis // *Indian J. Anim. Sci.* – 2017. – Vol. 87. – N 5. – pp. 624–629. doi: 10.56093/ijans.v87i5.70256.
11. Мухаммадиев Р.С., Мухаммадиев Р.С., Каримуллина И.Г., Шангараев Р.И., Мухаммадиева А.С., Акбашев И.Р., Сорокина Д.А., Хусайнова Г.И. Сравнительная характеристика штаммов *Bacillus subtilis* как перспективных кандидатов в пробиотики для животноводства // *Ветеринария Кубани*. – 2024. – № 5. – С. 23-27. doi: 10.33861/2071-8020-2024-5-23-27.
12. Иванищева А.П., Сизова Е.А., Яушева Е.В. Использование пробиотиков на основе олиго- и дисахаридов в птицеводстве - мини-обзор // *Сельскохозяйственная биология*. – 2023. – Т. 58. – № 4. – С. 609-621. doi: 10.15389/agrobiology.2023.4.609rus.

References

1. Mukhammadiev R.S., Mukhammadiev R.S., Valiullin L.R., Baryshev M.G., Karimullina I.G., Yakovlev S.I., Yarullin A.I. A new approach using probiotics, metabiotics and bacterial enzymes for correction of gut microbiota disturbances of young poultry caused by pathogenic factors // *Veterinaria Kubani*. – 2024. – No 1. – P. 14-20. doi: 10.33861/2071-8020-2024-1-14-20.
2. Mukhammadieva A.S., Mukhammadiev R.S., Mukhammadiev R.S., Valiullin L.R. Probiotic preparations as a modern method of treatment and prevention of gastrointestinal diseases of animals // *Current issues of improving the technology of production and processing of agricultural products*. – 2021. – No 23. – P. 544-546.
3. Li A., Kiani F.A., Liao J., Liu F., Chang Y.F. The role of gut microbiota in animal gastrointestinal diseases // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2025. – Vol. 15. – 1554277. doi: 10.3389/fcimb.2025.1554277.
4. Wang L., Hu C., Fan M.Z. The role of nutritional strategies in the regulation of gut microbiota and host immune system // *Front. Microbiol.* – 2024. – Vol. 15. – 1501596. doi: 10.3389/fmicb.2024.1501596.
5. Silvestro S., Biondo C., Midiri A., Lucia B., Mancuso G. The role of livestock antibiotic use in microbiota dysbiosis and neuroinflammation // *Antibiotics*. – 2025. – Vol. 14. – No 6. – P. 608-634. doi: 10.3390/antibiotics14060608.
6. Mukhammadiev R.S., Mukhammadiev R.S., Skvortsov E.V., Idiyatov I.I., Valiullin L.R. Study of the in vitro cytotoxicity testing of lactic and propionic acid bacteria // *The Veterinarian*. – 2019. – No 4. – P. 17-20. doi: 10.33632/1998-698X.2019-4-17-21.
7. Yue T., Lu Y., Ding W., Xu B., Zhang C., Li L., Jian F., Huang S. The role of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics in livestock and poultry gut health: a review // *Metabolites*. – 2025. – Vol. 15. – No 7. – P. 478-509. doi: 10.3390/metabo15070478.
8. Neminashcha L.A., Pavlenko I.V., Kazaku A.A., Skotnikova T.A., Frolov Yu.D. Innovative synbiotics for farm animals and poultry // *The Veterinarian*. – 2023. – No 1. – P. 42-50. doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_42.
9. Markowiak P., Śliżewska K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition // *Gut Pathog.* – 2018. – Vol. 10. – P. 21-41. doi: 10.1186/s13099-018-0250-0.
10. Bondareva N.I., Timchenko L.D., Dobrynya Yu.M., Alieva E.V., Rzhepakovskiy I.V., Likhacheva E.S., Sizonenko M.N., Piskov S.I., Kozlova M.A., Areshidze D.A. Influence of biologically active substances from kombucha (*Medusomyces gisevii*) on rat gut microbiota with experimental antibiotic-associated dysbiosis // *Indian J. Anim. Sci.* – 2017. – Vol. 87. – No 5. – P. 624–629. doi: 10.56093/ijans.v87i5.70256.
11. Mukhammadiev R.S., Mukhammadiev R.S., Karimullina I.G., Shangaraev R.I., Mukhammadieva A.S., Akbashev I.R., Sorokina D.A., Khusainova G.I. Comparative characteristics of *bacillus subtilis* strains as

promising candidates for probiotics for animal husbandry // Veterinaria Kubani. – 2024. – No 5. – P. 23-27. doi: 10.33861/2071-8020-2024-5-23-27.

12. Ivanishcheva A.P., Sizova E.A., Yausheva E.V. The use of prebiotics based on oligo- and disaccharides in poultry farming - a mini review // Agricultural Biology. – 2023. – Vol. 58. – No 4. – P. 609-621. doi:10.15389/agrobiology.2023.4.609eng.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

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

All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.
The authors declare that there is no conflict of interest.

Принята к публикации / accepted for publication 30.09.2025;

© Мухаммадиев Риш. С., Мухаммадиев Рин. С., Хусаинова Г. И., Сорокина Д. А. Фазулзянов И. А., Шангараев Р. И. 2025

Научная статья
 УДК 619:636.5:616.9
 DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_128

НЕОБХОДИМОСТЬ ПРЕДПРИЯТИЙ ПО ПРОИЗВОДСТВУ ОСОБО-ЧИСТЫХ ЯИЦ: АНАЛИЗ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Лилия Игоревна Новикова¹, *LI@biocombinat.ru*

Роман Николаевич Мельник¹, кандидат биологических наук, *mromanos@mail.ru*

Николай Васильевич Мельник¹, доктор ветеринарных наук, профессор, *melniknv@biocombinat.ru*

Олеся Анатольевна Богомолова¹, кандидат биологических наук, *ch7_lime@mail.ru*

Ульяна Евгеньевна Рысай¹, *ulyanarysay2003@mail.ru*

Данил Наильевич Мингалеев², доктор ветеринарных наук, профессор, *damin80@mail.ru*

Екатерина Витальевна Панкова², кандидат биологических наук, *katerinka_ja@bk.ru*

Мария Георгиевна Дунина³, кандидат сельскохозяйственных наук, *kydrinamasha@mail.ru*

¹ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, г/о Лосино-Петровский, Московская область, Российская Федерация

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

³ Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела, г. Пушкино, Московская область, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Роман Николаевич Мельник.

Аннотация. Статья посвящена перспективе развития предприятий по производству особо-чистых яиц, свободных как минимум от 29-31 агентов. В статье показано решение Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) запрета выпуска во всех странах медицинских, ветеринарных вакцин на биологических системах, контаминированных посторонними агентами. Это требование отмечалось участниками симпозиума по клеточным культурам, используемым в вакцинном производстве в Бетезде (1968). В рамках исследований показана эффективность высококачественных ингредиентов, входящих в рецептуру вакцин, а именно противовирусных. Чтобы предприятия биологической промышленности использовали особо-чистые яйца, нами необходимо получить племенное ядро особо-чистых кур в определённом качестве, которое даёт возможность крупномасштабного производства особо-чистого яйца. В исследованиях указываются требования к особо-чистому яйцу и необходимость проверки на наличие антител и патогенов. Авторский состав показал структуру потребления особо-чистого яйца, сегментацию респондентов по виду, используемого животного сырья и географическое распределение потребителей особо-чистых яиц. В свою очередь в статье изображена схема процесса производства особо-чистого яйца. Авторы указывают на приказ, который был предписан производителями противовирусных препаратов ветеринарного применения. В России с 1998 г. приказом 345 от 20 октября по Департаменту ветеринарии МСХ РФ биологической промышленности было предписано использовать при производстве вакцин только особо-чистые эмбрионы. Приказ № 432/512 от 03.12.1999 г. по Минздраву и Мин экономики РФ обязывает с 2005 года производить биопрепараты в строгом соответствии с требованиями GMP [1,2,3,5].

Ключевые слова: особо-чистое яйцо, предприятия, требования к особо-чистому яйцу, сырьё, противовирусные вакцины, инфекционные болезни, сохранность птиц, серологические исследования

Для цитирования: Новикова Л. И., Мельник Р. Н., Мельник Н. В., Богомолова О. А., Рысай У. Е., Мингалеев Д. Н., Панкова Е. В., Дунина М. Г. Необходимость предприятий по производству особо чистых яиц: анализ и перспективы // Ветеринарный врач. 2025. №5. С. 128 – 134. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_128

THE NEED FOR SPECIAL-PURITY EGG PRODUCERS: ANALYSIS AND PROSPECTS

Liliya I. Novikova¹, *LI@biocombinat.ru*

Roman N. Melnik¹, Candidate of Biological Sciences, *mromanov@mail.ru*

Nikolay V. Melnik¹, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, *melniknv@biocombinat.ru*

Olesya A. Bogomolova¹, Candidate of Biological Sciences, *ch7_lime@mail.ru*

Ulyana E. Rysay¹, *ulyanarysay2003@mail.ru*

Danil N. Mingaleev², doctor of veterinary sciences, Professor, *damin80@mail.ru*

Ekaterina V. Pankova², Candidate of Biological Sciences, *katerinka_ja@bk.ru*

Maria G. Dunina³, Candidate of Agricultural Sciences, *kydrinamasha@mail.ru*

¹All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry, Losino-Petrovsky, Moscow Region, Russian Federation

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

³All Russian Research Institute of Animal Breeding, Pushkin district, Moscow Region, Russian Federation

Corresponding author: Roman Nikolaevich Melnik.

Abstract. The article is devoted to the prospects for the development of enterprises producing ultra-clean eggs, free from at least 29-31 agents. The article shows the decision of the World Health Organization (WHO) to ban the release of medical and veterinary vaccines in all countries on biological systems contaminated with foreign agents. This requirement was noted by participants in the symposium on cell cultures used in vaccine production in Bethesda (1968). The studies showed the effectiveness of high-quality ingredients included in the formulation of vaccines, namely antiviral ones. In order for biological industry enterprises to use extra-clean eggs, we need to obtain a breeding core of extra-clean chickens in a certain quality, which makes it possible to large-scale produce extra-clean eggs. The studies show the requirements for extra-clean eggs and the need to check for the presence of antibodies and pathogens. The authors showed the structure of consumption of extra-clean eggs, segmentation of respondents by the type of animal raw materials used and the geographic distribution of consumers of extra-clean eggs. In turn, the article shows a diagram of the process of producing extra-clean eggs. The authors point to the order that was prescribed by the manufacturers of antiviral drugs for veterinary use. In Russia, since 1998, by order 345 of October 20, the Department of Veterinary Science of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation prescribed the biological industry to use only ultra-clean embryos in the production of vaccines. Order No. 432/512 of December 3, 1999 of the Ministry of Health and the Ministry of Economy of the Russian Federation obliges, since 2005, to produce biological products in strict accordance with GMP requirements.

Keywords: Ultra-clean egg, enterprises, requirements for ultra-clean egg, raw materials, antiviral vaccines, infectious diseases, safety of birds, serological studies

Введение. Птицеводство занимает ведущее положение среди отраслей сельскохозяйственного производства. Высокая концентрация птице-поголовья в многочисленных промышленных фермерских птицеводческих хозяйствах создает потенциальную опасность возникновения многих инфекций за счет условно-патогенной микрофлоры.

По решению Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) во всех странах запрещен выпуск медицинских, ветеринарных вакцин на биологических системах, контаминированных посторонними агентами. Это требование отмечалось участниками симпозиума по клеточным культурам, используемым в вакцинном производстве в Бетезде (1968). Производство самих особо-чистых яиц осуществляется под постоянным контролем со стороны службы безопасности и контроля качества. Согласно требованиям Европейской Фармакопеи (ЕФ), а в США дополнительными требованиями USDAMEMO 800-65, от производства особо-чистой продукции требуется соблюдение жестких GMP-стандартов в инкубаториях и птичниках.

В России с 1998 г. приказом 345 от 20 октября по Департаменту ветеринарии МСХ РФ биологической промышленности было предписано использовать при производстве вакцин только особо-чистые эмбрионы. Приказ № 432/512 от 03.12.1999 г. по Минздраву и Мин экономики РФ обязывает с 2005 года производить биопрепараты в строгом соответствии с требованиями GMP.

Предприятия по производству особо-чистых яиц обеспечивают свободу своей продукции от как минимум 16 и до 29-31 агентов. Классическими областями применения особо-чистых яиц являются производство множества вакцин, выведенных из эмбрионов и клеточных культур, диагностика заболеваний птицы, производство стад и селекционная работа в области биомедицины и бионауки.

Особо-чистые яйца являются основным сырьем для производства вирусных вакцин и диагностических препаратов, проведения научно-исследовательских работ в ветеринарной и медицинской вирусологии. С помощью особо-чистых яиц проводится поддержка основополагающих иммунологических работ (прививание и др.). Развитие современной науки привело к появлению таких перспективных областей (с точки зрения использования особо-чистых яиц) как трансгенные исследования, производство лечебного белка человека и биопрепаратов на его основе для нужд медицины.

В настоящее время Российской Федерации не располагает собственными мощностями для производства особо-чистых яиц. Все потребности биологической промышленности и научно-исследовательских учреждений обеспечиваются за счет импорта из США, Германии, Израиля и Венгрии, Франции, Индии. Создание собственного особо-чистого питомника значительно повысит качество производимых в России биопрепаратов, повысит эффективность научных исследований, будет содействовать созданию необходимого уровня биологической безопасности страны в целом.

Особо-чистые яйца (свободные от специфических патогенных контаминаントов) или в английской транскрипции (SPF-eggs – specific pathogen free) являются основным сырьем для производства вирусных вакцин и диагностических препаратов, проведения научно-исследовательских работ в ветеринарной и медицинской вирусологии. В настоящее время на рынке ветеринарных препаратов представлено большое количество моно и комплексных антибактериальных средств широкого спектра действия. Несмотря на это, проблема борьбы с бактериальными болезнями остаётся актуальной из-за циркуляции на территории РФ высокопатогенных штаммов и бессистемного применения профилактических и лечебных препаратов без учёта чувствительности к ним микроорганизмов. Повсеместное и бесконтрольное использование антибиотиков не только для лечения птицы, но и в качестве стимуляторов повышения мясной и яичной продуктивности привело к созданию антибиотикорезистентных микроорганизмов.

Необходимо сделать инфекции «управляемыми». Один из методов «управления» эпизоотическим и эпидемиологическим процессами – общепризнанный способ защиты птицы от инфекционных болезней – специфическая профилактика. В обязательном порядке на всех промышленных яичных и мясных птицефабриках иммунизируют всю птицу против Ньюкаслской болезни, болезней Гамборо, Марека, а также инфекционного бронхита. Эффективность вакцин зависит от качества препарата, состоящего с высококачественными ингредиентами, входящих в рецептуру вакцин, а именно противовирусных, зависит от куриного особо-чистого яйца свободного от 28 и более патогенов.

Известно около 3500 видов патогенных или условно патогенных для животных и птиц, т.е. способны вызывать заболевания. Эффективное функционирование птицеводческих промышленных предприятий в современных условиях возможно только при условии жёсткого соблюдения всех мероприятий биологической защиты. В соответствии с требованиями европейской Фармакопеи и инструкции 91/412/ЕС производство таких биопрепаратов должно быть сделано с использованием особо-чистых куриных эмбрионов. Только это разрешает минимизировать риск загрязнения готовых изделий с патогенными микроорганизмами. Ежегодная потребность биологической индустрии России составляет по крайней мере 30 миллионов яиц [3,4,5,6,7].

Цель исследования - проанализировать необходимость создания собственного особо-чистого питомника в России как ключевого фактора для повышения качества биопрепаратов, эффективности научных исследований и обеспечения биологической безопасности страны.

Материалы и методы. Нами должно быть получено племенное ядро особо-чистых кур в экспериментальных условиях количестве 350 голов несушек, для получения родительского стада. Ветеринарные врачи должны пройти стажировку на предприятии для освоения технологии селекционной работы с чистыми линиями и гибридными формами, технологии кормления и содержания птиц, стерилизации кормов, воды и воздушной среды, методов контроля особо-чистого статуса птиц. Мощность проектируемой птицефермы должна составлять от 5 до 15 миллионов штук (особо-чистых яиц) в год для обеспечения научно-исследовательских институтов и производственных предприятий по выпуску лекарственных препаратов противовирусного характера, а также для медицинских целей.

Нашиими преимуществами в разрабатываемом проекте являются:

1. Единственные крупные производители особо-чистых яиц в России.
2. Производство на территории РФ и как следствие, отсутствие таможенных оформлений и таможенных платежей, более низкая цена – существенное конкурентное преимущество.
3. Потенциальная возможность увеличения объема производства и продажи особо-чистых яиц – поставка яиц в Республику Беларусь и организация экспорта в страны Ближнего Востока, Азии, Восточной Европы и др. по конкурентоспособным ценам.
4. Перспективы выхода в сегмент медицинских препаратов.

5. Производство продукции с высокой добавленной стоимостью путем получения эмбрионов.

Особо-чистые яйца свободны от передающихся вертикально по наследству агентов, таких как птичий аденовирус, вирус птичьего энцефаломиелита, реовирусов, лимфоидный лейкоз, ретикулоэндотелиоз, респираторный микоплазмоз птиц, синовиальная микоплазма, сальмонелла пуллорум. В дополнение к этому, особо-чистые яйца также свободны от передающихся горизонтально инфекций, таких как болезнь Ньюкасла, инфекционные бронхиты, инфекционная бурсальная болезнь, болезнь Марека и птичий грипп. В таблице 1 показана характеристика и требования к особо-чистому яйцу.

Таблица 1 – Характеристики особо-чистого яйца

№п\п	Наименование показателей	Характеристика и нормы, ед. изм.	Методы испытаний
1	Внешний вид	Скорлупа белого цвета, без наложений грязи	Визуально
2	Проницаемость скорлупы для света	Должна хорошо просматриваться воздушная камера. 2,0 мм	Овоскопирование Измеряется линейкой-шаблоном
3	Масса яйца	52 г +4 г	Взвешивание на весах 2 класса точности, индивидуально с точностью до 0,1 г
4	Толщина скорлупы, не менее	0,35 мм	Измеряется микрометром с точностью до 0,01 мм
5	Отношение массы желтка к белку	1:2	Взвешивание с точностью до 0,1 г
6	Оплодотворяемость, не менее	85%	Овоскопирование
7	Выводимость, не менее	90%	Результаты вылупления
8	Содержание каротиноидов в желтке, не менее	18 мкг/г	Химический анализ
9	Содержание витамина А в желтке, не менее	8 мкг/г	Реакция желтка с треххлористой сурьмой
10	Содержание витамина В2 в желтке и в белке, не менее	2 мкг/г в желтке, 4 мкг/г в белке	Использование метода флуоресценции растворов витамина В2
11	Содержание витамина Д, не менее	0,2 мкг/г	Метод определения витамина Д
12	Отсутствие антител и патогенов:	Полное отсутствие	
13	Аденовирусов	Полное отсутствие	РДП*
14	Болезнь Гамборо	Полное отсутствие	РДП
15	Грипп птиц	Полное отсутствие	РДП
16	Болезнь Марека	Полное отсутствие	РДП
17	Реовирусы	Полное отсутствие	РДП
18	Болезнь Ньюкасла	Полное отсутствие	РТГА*2
19	Синдрома снижения яйценоскости	Полное отсутствие	РТГА
20	Инфекционный ларинготрахеит	Полное отсутствие	РН*3
21	Лейкоз (групповой)	Полное отсутствие	РН, РИФ*4
22	Энцефаломиелит	Полное отсутствие	Метод заражения куриных эмбрионов
23	Сальмонеллезы Р	Полное отсутствие	РСА*5
24	Микоплазмы (GS)	Полное отсутствие	РСА

*РДП – реакция диффузной преципитации

*2 РТГА – реакция торможения гемагглютинации

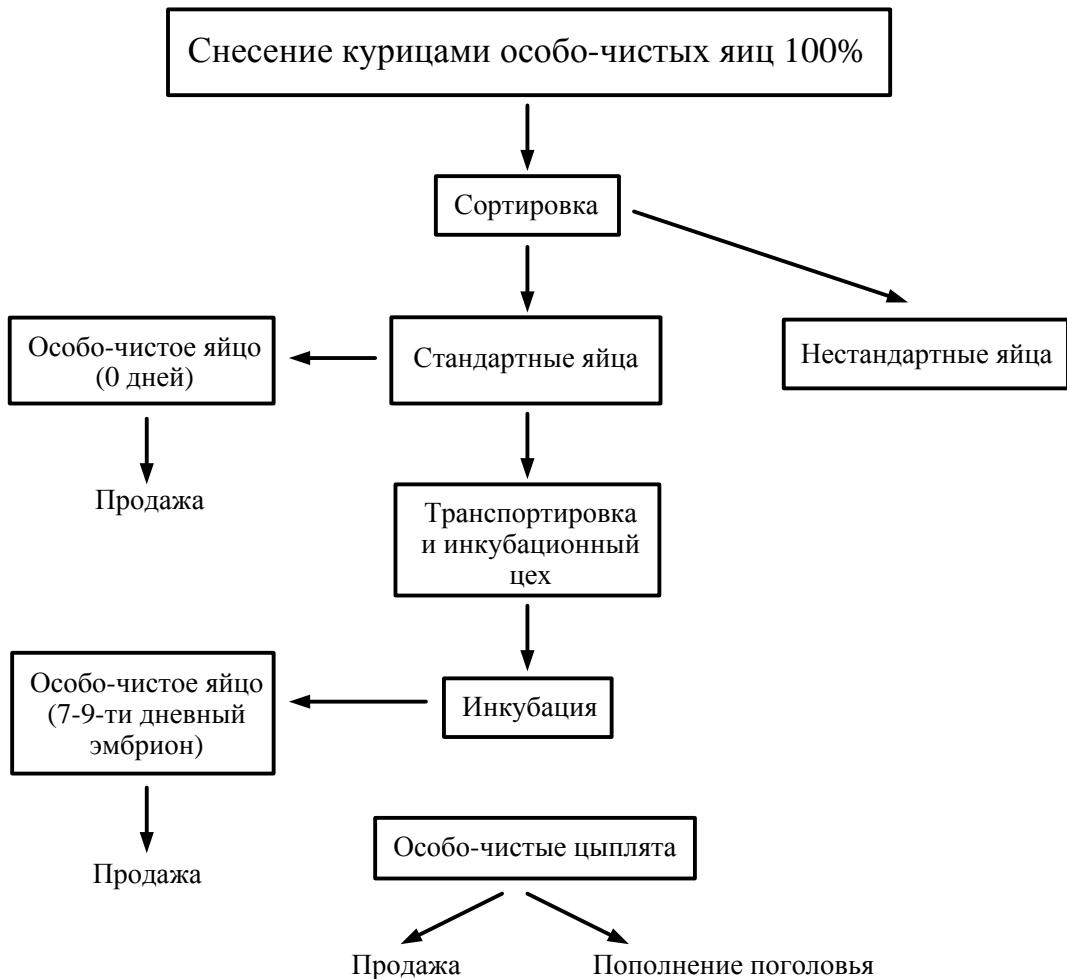
*3 РН – реакция нейтрализации

*4 РИФ – реакция иммунофлюоресценции

*5 РСА – реакция сероагглютинации [9,10,11].

Результаты проведенного анализа рынка потребления используемой продукции, показывает, что в настоящий момент значительную долю в структуре потребителей продукции и товаров-заменителей занимают научные центры и НИИ, затем идут биофабрики и наконец ветеринарные лаборатории.

Рисунок 1 – Процесс производства особо-чистых яиц



На рисунке 1 схема наглядно показывает процесс производства. Сразу же, после снесения, яйца подлежат жёсткой сортировке, в результате которой отбраковывается до 10% яиц. Таким образом, выводимость составляет до 75% от первоначального количества (с учётом нестандартных яиц, потеря от транспортировки, боя, неоплода).

Россия зависит от поставок особо-чистых яиц из-за границы. Куриные яйца, свободные от патогенной микрофлоры, нужны для производства противовирусных вакцин от короновируса и гриппа. В России пока нет собственного производства, поэтому их приходится импортировать. Производство яиц, свободных от патогенной микрофлоры – стратегический вопрос для страны.

В настоящее время фармакопея (нормативные документы, определяющие требования к качеству лекарств) определяет требования к яйцам для иммунобиологической промышленности как «полученные от здоровой птицы из птицехозяйств, благополучных по инфекционной заболеваемости птиц».

Персонал для работы с особо-чистым стадом не должен иметь контактов с другими стадами кур. Сотрудники работают в специальной защитной одежде, используют средства индивидуальной защиты (респираторы, перчатки) для того, чтобы снизить любой риск контаминации. Все предметы, которые вносят в помещения с особо-чистыми птицами, стерилизуют, используют специальные корома, для которых исключено любое микробиологическое загрязнение. Сведения о здоровье каждой птицы постоянно регистрируют, стада регулярно вакцинируют инактивированными вакцинами, записи сохраняют в течении 5 лет. Чтобы получить особо-чистое стадо, нужно вырастить три поколения птиц, не зараженных специфичными патогенами.

В среднем, из одного куриного особо-чистого яйца получается несколько доз живой вакцины. Также особо-чистые яйца используются для производства ветеринарных вакцин. Если оценивать потребность иммунологической промышленности РФ, то объем может составить от 2 до 5 млн. яиц в год. К сожалению, технология производства особо-чистого яйца сегодня в России отсутствует. Мы полностью зависимы от импорта. Надо понимать, что запуск производства занимает ни год и не два – это очень сложный, дорогостоящий технологический процесс. Обеспечение несущих куриц, не зараженных целым рядом заболеваний – сложный процесс. Еще сложнее наладить выпуск особо-чистых яиц, которые используются для производства живых вакцин, в том числе для ветеринарного применения. Там технология производства гораздо сложнее и дороже.

Нами, проводятся научно-производственные работы по разработке требований к организации фермы (питомника) для получения яйца свободного от специфических инфекционных патогенов для производства противовирусных вакцин. При выполнении всех рекомендаций, которые мы отрабатывали непосредственно в производственных условиях, мы добились сохранности птиц за период выращивания, которая составила 99,5%. Для серологических исследований использовали диагностикумы KPL (США), Biocher (Англия), ВНИИЗЖ, ВГНК [8,11,12,13, 14,15].

Заключение. В ходе выполнения научно-практической работы были успешно решены все поставленные задачи и достигнута заявленная цель исследования. Полученные результаты позволяют оценить современное состояние проблемы разработки требований к организации особо-чистого питомника (фермы) для производства яиц, свободных от специфических инфекционных патогенов, что является ключевым этапом в создании противовирусных вакцин. Данные исследования подтверждают эффективность предложенных подходов и открывают перспективы для дальнейшего развития биотехнологий в области биологической безопасности и фармацевтики.

Список источников

1. Новикова Л.И., Мельник Р.Н., Мельник Н.В., Стариakov В.А., Боровой В.Н., Мингалеев Д.Н., Панкова Е.В. Необходимость создания отечественного питомника и требования к производству SPF-яйца. Ветеринарный врач. 2024. №3. С. 69-73.
2. Новикова Л.И., Стариakov В.А., Старикова О.И., Мельник Н.В., Мельник Р.Н., Пигарева Ю.И., Хаустова Н.В., Захарова Е.М. Потребность в производстве особо-чистого куриного яйца для крупномасштабного производства противовирусных вакцин АПК-России. В сборнике: Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК. Материалы Международной научно-практической конференции. Лосино-Петровский, 2023. С. 269-278.
3. Агеев В.Н., Асринян М.А., Воробьев С.А. и др. Индустриальная технология производства яиц. М., Россельхозиздат, 1984. С.25-40.
4. Баррет Т., Берд П. и др. Вирусология. Методы.: Перевод с англ./Под ред. Б. Мейхи/-М., 1988, с. 162-170.
5. Болотских Л.А. Использование гнотобиологического метода при производстве птиц, свободных от патогенных факторов (СПФ). // Тезисы Всесоюзной конференции «Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных», М., 1988, с. 16-17.
6. Воронин Е.С. Способы получения СПФ-питомников птиц для производства живых вирусных вакцин. // В кн. Теоретические и практические проблемы гнотобиологии. М., Агропромиздат, 1986, с. 37-42.
7. Зеленский В.П., Коровин В.П. Значения для научных исследований хозяйств СПФ. // В кн. Опухолевые болезни птиц, 1984, с. 18-20, 87-126.
8. Иванов А.А., Исаченко И.Б. и др. Прикладные аспекты деконтаминации конвенциональных животных – в сб. Теоретические и практические проблемы гнотобиологии. М., 1986, с. 223-224.
9. Коровин Р.Н., Зеленский В.П., Грошева Г.А, Лабораторная диагностика болезней птиц. М., Агропромиздат, 1986, с. 256.
10. Николаева И.П., Рождественский И.К., Хохлачев О.Ф. Лабораторная диагностика адено-вирусных инфекций птиц. // сб. научных трудов ВНИТИП и ВНИВИП «Новое в борьбе с болезнями птиц», Л., 1984, с. 40-43.
11. Пикер Е.Г., Васильева Н.И., Ратькин Э.В. Яйца кур свободные от патогенной микрофлоры (СПФ), как источник высокоспецифических антител, необходимых для иммунодиагностикумов. // Тезисы Всесоюзного симпозиума «Актуальные вопросы диагностики инфекционных болезней лабораторных животных...», М., Медицина. 1989, с. 40-41.

12. Соколова А.Н. Изменение терморегуляционной функции у птиц методом искусственного отбора. – В кн. «Микроэволюция» // Сб. тезисов 1 Всесоюзной конференции по вопросам эволюции. М., 1985, с. 133-134.
13. Cauchy L., Caudert F. La maladie de Marek. // Rev. Seiet Techn. Off. Int. Epizoot., 1986, 5, №4, s. 1011-1024.
14. Dalton P. The maintenance and problems of SPF flens. // Internet. Symposium on Requirements for Poultry virus vaccines, August, 1984, Devel. Biol. Standart. Vol. 25, p. 80-85.
15. Takamatsu. Production and meintenanse of SPF Tlock. // Internet. Symposium on Requirements for Poultry virus vaccines. Lion, 1993, vol. 25, p. 38-45.

References

1. Novikova L.I., Melnik R.N., Melnik N.V., Starikov V.A., Borovoy V.N., Mingaleev D.N., Pankova E.V. Necessity to create a domestic nursery and requirements for the production of SPF-eggs. Veterinary Physician. 2024. No. 3. P. 69-73.
2. Novikova L.I., Starikov V.A., Starikova O.I., Melnik N.V., Melnik R.N., Pigareva Y.I., Haustova N.V., Zakharova E.M. Need for the production of especially pure chicken eggs for large-scale production of antiviral vaccines of AIC-Russia. In Collection: Scientific based of production and quality assurance of biological preparations for AIC. Materials of the International scientific and Practical conference. Losino-Petrovsky, 2023. P. 269-278.
3. Ageev V.N., Asrinyan M.A., Vorobyov S.A. et al. Industrial technology of egg production. M., Rosselkhozizdat, 1984. P. 25-40.
4. Barrett T., Bird P. et al. Virology. Methods: Translated from English / Edited by B. Meikhi / - M., 1988, pp. 162-170.
5. Bolotskikh L.A. The use of gnotobiological method in the production of pathogen-free birds (SPF). // Theses of the All-Union Conference "Actual issues of standardization of laboratory animals", M., 1988, pp. 16-17.
6. Voronin E.S. Methods for obtaining SPF-fed birds for the production of live viral vaccines. // In V kn. Theoretical and practical problems of gnotobiology. Moscow, Agropromizdat, 1986, pp. 37-42.
7. Zelensky V.P., Korovin V.P. Values for scientific research of SPF farms. // In the book. Tumor diseases of birds, 1984, pp. 18-20, 87-126.
8. Ivanov A.A., Isachenko I.B. et al. Applied aspects of decontamination of conventional animals - in Sb. Theoretical and practical problems of gnotobiology. Moscow, 1986, pp. 223-224.
9. Korovin R.N., Zelensky V.P., Grosheva G.A., Laboratory diagnostics of diseases of birds. M., Agropromizdat, 1986, p. 256.
10. Nikolaeva I.P., Rozhdestvensky I.K., Khokhlachev O.F. Laboratory diagnostics of adenovirus infections of birds. // collection of scientific papers of VNITiP and VNIVIP "New in the fight against diseases of birds ", L., 1984, pp. 40-43.
11. Picker E.G., Vasilieva N.I., Ratkin E.V. Chicken eggs free from pathogenic microflora (SPF) as a source of highly specific antibodies required for immunodiagnosticums. // Theses of the All-Union Symposium "Actual issues of diagnostics of infectious diseases of laboratory animals ...", M., Medicine. 1989, pp. 40-41.
12. Sokolova A.N. Alteration of thermoregulatory function in birds by the method of artificial selection. – In the book "Microevolution" // Collection of abstracts of the 1st All-Union Conference on Evolution. Moscow, 1985, pp. 133-134.
13. Cauchy L., Caudert F. La maladie de Marek. // Rev. Seiet Techn. Off. Int. Epizoot., 1986, 5, №4, s. 1011-1024.
14. Dalton P. The maintenance and problems of SPF flens. // Internet. Symposium on Requirements for Poultry virus vaccines, August, 1984, Devel. Biol. Standart. Vol. 25, p. 80-85.
15. Takamatsu. Production and meintenanse of SPF Tlock. // Internet. Symposium on Requirements for Poultry virus vaccines. Lion, 1993, vol. 25, p. 38-45.

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 21.08.2025;

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ПРЕПАРАТА ИЗ ГЛУБИННОГО МИЦЕЛИЯ БАЗИДИОМИЦЕТА

Александр Николаевич Разин¹, кандидат биологических наук, *pharmlines@yandex.ru*
 Николай Васильевич Пименов¹, доктор биологических наук, профессор, профессор РАН,
pimenov-nikolai@yandex.ru

Геннадий Владимирович Комоско², кандидат биологических наук
 Владимир Геннадьевич Комоско²

Михаил Юрьевич Волков¹, доктор биологических наук, *mik-vlk@yandex.ru*

Антон Юрьевич Беловолов³, кандидат химических наук, *a.belovolov@yandex.ru*

Анна Сергеевна Сюткина², кандидат ветеринарных наук, *annasiutkina@yandex.ru*

¹ Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии —МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Российская Федерация

² Вятский государственный университет

³ Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» ФМБА России, г. Киров, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Александр Николаевич Разин.

Аннотация. В настоящем исследовании представлены результаты производственных испытаний биологически активной добавки, основанной на высушенном мицелии гриба *Phallus impudicus*, направленной на повышение выживаемости поросят в критический послеотъёмный период. Пробиотическая добавка получена методом глубинного культивирования грибного мицелия в стандартной жидкой глюкозопептонной среде. Культивирование осуществлялось на качалке при скорости вращения 120 об/мин и температуре 24°C в колбах Эрленмейера объемом 750 мл, каждая из которых содержала 200 мл культуральной среды. В итоге биомасса составила 5,0 г/л ± 5%. Для оценки эффективности препарата были проведены сравнительные исследования на трёх группах животных: двух опытных и одной контрольной. Поросята из опытных групп получали исследуемую добавку в двух различных дозировках — 100 мг/кг и 200 мг/кг массы тела, в то время как животные из контрольной группы подвергались плацебо-терапии с использованием кипячёной воды. Экспериментальные условия были тщательно контролируемые для минимизации внешних факторов, которые могли бы повлиять на результаты исследования. Анализ полученных данных показал, что применение биологически активной добавки на основе мицелия *Phallus impudicus* оказало положительное влияние на выживаемость поросят-отъёмышей. В обеих опытных группах наблюдался статистически значимый прирост сохранности животных по сравнению с контрольной группой, составивший 15% и 13,5% соответственно. Эти результаты свидетельствуют о высокой эффективности исследуемого препарата в условиях промышленного свиноводства и могут быть рекомендованы для дальнейшего внедрения в ветеринарную практику.

Ключевые слова: базидиомицет, *Phallus impudicus*, мицелий, выживаемость поросят, потребление корма

Для цитирования: Разин А. Н., Пименов Н. В., Комоско Г. В., Комоско В. Г., Волков М. Ю., Беловолов А. Ю., Сюткина А. С. Производственные испытания препарата из глубинного мицелия базидиомицета // Ветеринарный врач. 2025. № 5. С. 135 – 143. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_135

PRODUCTIONTESTS OF THE PREPARATIONFROM THE DEEPMYCELIUM OF BASIDIOMYCETES

Alexander N. Razin¹, candidate of biological sciences, *pharmlines@yandex.ru*

Nikolay V. Pimenov¹, doctor of biological sciences, professor, professor of the Russian Academy of Sciences, *pimenov-nikolai@yandex.ru*
 Gennady V. Komosko²candidate of biological sciences
 Vladimir G. Komosko²
 Michael Y. Volkov¹, doctor of biological sciences, *mik-vlk@yandex.ru*
 Anton Y. Belovolov³, candidate of chemical sciences, *a.belovolov@yandex.ru*
 Anna S. Syutkina², candidate of veterinary sciences, *annasiutkina@yandex.ru*

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

²Vyatka State University, Russian Federation

³ Russian Medical Research and Production Center "Rosplasma" of the FMBA of Russia, Russian Federation

Corresponding author: Alexander Nikolaevich Razin.

Abstract. The present study presents the results of production tests of a biologically active additive based on the dried mycelium of the *Phallus impudicus* fungus, aimed at increasing the survival of piglets during the critical post-weaning period. The probiotic supplement was obtained by deep cultivation of fungal mycelium in a standard liquid glucose-peptone medium. Cultivation was carried out on a rocking chair at a rotational speed of 120 rpm and a temperature of 24 °C in 750 ml Erlenmeyer flasks, each of which contained 200 ml of culture medium. As a result, the biomass was 5.0 g/l ± 5%. To assess the effectiveness of the drug, comparative studies were conducted on three groups of animals: two experimental and one control. Piglets from the experimental groups received the study supplement in two different dosages — 100 mg /kg and 200 mg/kg body weight, while animals from the control group were subjected to placebo therapy using boiled water. The experimental conditions were carefully controlled to minimize external factors that could affect the results of the study. An analysis of the data obtained showed that the use of a dietary supplement based on the mycelium *Phallus impudicus* had a positive effect on the survival of weaned piglets. In both experimental groups, there was a statistically significant increase in animal safety compared to the control group, amounting to 15% and 13.5%, respectively. These results indicate the high effectiveness of the studied drug in the conditions of industrial pig breeding and can be recommended for further implementation in veterinary practice.

Keywords: basidiomycete, *Phallus impudicus*, mycelium, piglet survival rate, feed intake

Введение. Биотехнологические препараты занимают центральное место в современном животноводстве и ветеринарии, открывая новые горизонты для повышения здоровья и продуктивности животных. Эти инновационные средства позволяют не только эффективно бороться с инфекционными заболеваниями, но и оптимизировать кормление, улучшать продуктивные показатели и общее состояние здоровья животных, в том числе при разведении домашних свиней [1-3].

Отъем поросят является одним из самых критических и стрессовых этапов в свиноводстве, который существенно влияет на их дальнейшее развитие и продуктивность [3, 4]. В данный период часто наблюдается пост отъемная диарея — кишечное заболевание, оказывающее негативное влияние на здоровье поросят в первые две недели после отъема. Этот процесс связан с рядом физиологических и психологических изменений. Одним из основных факторов, предрасполагающих к заболеванию, является стресс, который приводит к снижению потребления корма, замедлению роста, а также повышению уровня заболеваемости и смертности среди отъемных поросят, особенно в течение первой недели после отъема, в то время как кишечный барьер и иммунная система еще не полностью развиты. Последствиями стресса становятся низкая продуктивность животных и рост количества очагов кишечного воспаления [5]. Всё это делает необходимость разработки и внедрения эффективных стратегий, направленных на минимизацию стресса и поддержание здоровья животных особенно актуальной.

В период после отъема поросята переживают резкие изменения в режиме питания и социальной структуре, что негативно сказывается на их пищеварительной системе и иммунном ответе. В период отъема у матки активируется симпатико-адреналовая и гипоталамус-аденогипофиз-адренокортикальная системы, что приводит к существенным изменениям в обменных процессах и иммунобиологической реактивности, которые наряду с другими факторами играют важную роль в возникновении ряда заболеваний, особенно желудочно-кишечных, регистрируемых в после отъемный период. У поросят изменяется весь процесс существования: появляется новая среда обитания, изменяется тип кормления, как и сами корма, исчезает опека (защита) матери, возникают конфликты

с другими, новыми особями. При этом смешивание поросят нескольких пометов в одном станке вызывает у них новые проблемы, связанные с сохранением или приобретением «первенства», выяснение ранговых отношений, что приводит к дракам, травмам и беспокойству. Поросята меньше отымаются, у них уменьшается аппетит (надо привыкать к новому корму), изменяется микроклимат, газовый и температурный режим, что само по себе является стрессом [6].

В соответствии с имеющимися литературными данными, отъемный период у поросят резко увеличивается количество диареи, затем появляются бронхопневмонии, авитаминозы и другие нарушения обмена веществ, отчего снижаются привесы животных и возникают летальные исходы (таблица 1) [7, 8, 9].

Таблица 1 – Динамика заболевания поросят диареями (на основе литературных данных) за 2020-2023 гг. [7-9]

Возраст поросят	% заболеваемости	% падежа от заболевания
1-10 дней	40,6-46,5	42,9-43,6
10-30 дней	28,5-29,1	30,9-31,4
1-35 дней	25,8-29,7	7,05-7,54
35-75 дней	25,0-29,9	25,5-25,7
75-200 дней	13,6-26,7	17,6-51,1

Учитывая, что поросята в это время подвержены большему риску инфекционных заболеваний, крайне важно обеспечить оптимальные условия содержания и питания животных, а также рассматривать возможность применения специализированных добавок, способствующих улучшению состояния их здоровья. В этой связи, для производства специализированных кормов и пищевых добавок для животных становится актуальным использование биотехнологий, особенно в условиях усиливающейся угрозы антибиотикорезистентности и растущих требований к экологичности производства. Таким образом, оптимизация процессов производства биологически активных веществ, которые могут быть использованы для разработки лекарственных препаратов или биологически активных добавок к пище делается одной из ключевых областей развития биотехнологии [10, 11].

В качестве одного из источников безопасного получения таких веществ могут рассматриваться высшие грибы – базидиомицеты. Метаболиты базидиомицетов или компоненты их клеточных стенок, демонстрируют противоопухолевую, иммуностимулирующую, антиоксидантную, нейропротекторную, противодиабетическую и противомикробную активность. Исследования, направленные на разработку инъекционного препарата из мицелия *Phallus impudicus* с использованием щелочной экстракции и последующей стерилизации, иллюстрируют практическое применение грибов в биотехнологии [11-13].

Среди перспективных продуцентов можно выделить Веселку обыкновенную (*Phallus impudicus*). В медицине применяются экстракти этого гриба, в частности, для получения фунгицидных препаратов, противоопухолевых и противоинфекционных средств [12, 14]. Экстракти базидиомицетов, такие как гриб *Phallus impudicus*, содержат полисахариды, а именно β -глюканы, которые уже доказали свою эффективность в проявлении адаптогенных и иммуностимулирующих свойств. [10, 13-15]. Таким образом, сочетание противовоспалительных, antimикробных и иммуномодулирующих свойств базидиомицетов как *Phallus impudicus* делает их перспективными кандидатами для создания как ветеринарных препаратов, так и инновационных кормовых добавок [15-17].

Для культивирования грибов в промышленных масштабах в настоящее время разработаны ряд методов, в том числе, методы глубинного культивирования грибного мицелия в биореакторах. Данные методы обладают рядом преимуществ по сравнению с другими и предоставляют возможность не только экономически эффективно извлекать разнообразные биологически активные соединения, но и обеспечивать стандартизацию как процессов, так и конечных продуктов. Непрерывное механическое перемешивание в биореакторе, наряду с аэрацией питательной среды, создает оптимальные условия для обеспечения доступа питательных веществ и растворенного кислорода ко всем клеткам мицелия, что способствует их росту и накоплению метаболитов. Ключевым аспектом является поддержание стерильности в ферментере в ходе культивирования. Глубинный процесс характе-

ризуется большей экономичностью благодаря сокращению времени ферментации и увеличению выхода конечного продукта.

Целью данного исследования являлось проведение производственных испытаний препарата из мицелия *Phallus impudicus*, полученного методом глубинного культивирования, для оценки его влияния на выживаемость поросят отъемышей.

Материалы и методы. Производственные испытания проводили на поросятах-отъемышах 42-х дневного возраста, содержавшихся на стандартном рационе в животноводческом хозяйстве «Русское Подворье» в Волосовском районе Ленинградской области.

Методом парных аналогов были сформированы три группы животных по 107 поросят в каждой. Контрольная группа поросят получала стандартный рацион, первой опытной группе совместно с рационом в утренние часы вводили препарат из мицелия гриба *Phallus impudicus* в дозе 100 мг/кг, второй опытной группе – 200 мг/кг, скармливание препарата проводили в течение 3 суток. За всеми группами животных вели наблюдение, отмечали наличие аппетита, анализировали все случаи отклонения от нормального физиологического состояния снижение активности, наличие угнетения, заболевания, гибели животных и др. Выборочно проводили измерение температуры тела. В период проведения исследований учитывали интенсивность прироста живой массы тела в течение всего периода исследований. Взвешивание проводили согласно методикам, принятым в зоотехнической практике свиноводства каждые 14 дней, индивидуальным методом, на весах ВСП4-150 ЖСО.

Работа выполнена с соблюдением международных стандартов гуманного отношения к животным (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС «О защите животных, использующихся для научных целей» (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, 2010), в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных. [Приложение к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977].

Для получения опытной серии биопрепарата использовали чистую культуру гриба базидиомицета *Phallus impudicus* (*Phallus impudicus*, Linnaeus, 1753: Persoon, 1801; Класс *Basidiomycetes*; порядок *phallales*; семейство *phallaceae*) из коллекции культур микроорганизмов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург. Культивирование гриба *Phallus impudicus* проводили глубинным способом. При оптимизации глубинного культивирования этого гриба использовали следующие основные контролируемые факторы: температура культивирования; время культивирования; pH питательной среды; скорость вращения мешалки; концентрации в питательной среде: глюкозы, дрожжевого гидролизата, пептона. Эффективность оптимизации определяли, путем учета количества сухого мицелия гриба, полученного из 1 литра жидкой питательной среды.

Чистую культуру гриба выращивали на лабораторной качалке при непрерывном перемешивании, в колбах Эрленмейера, культивирование мицелия гриба проводили в ферmentерах с рабочим объемом питательной среды 1750,0 мл. Биомассу гриба собирали после вакуумной фильтрации с использованием фильтров (Whatman № 2, Бакингемшир, Великобритания). Свежий мицелий переносили в предварительно взвешенные стеклянные флаконы Маккартни и массу мицелия фиксировали с точностью до четвертого знака на весах (Kern AGB, Брайсгау, Германия). Мицелий сушили во флаконах. Высушенный мицелий размалывали с целью разрушения клеточной стенки мицелия и проводили термическую обработку для гидратации молекул β -глюкана. Конечный продукт для обеспечения его безопасности и эффективности стандартизовали по количеству и по качеству - методом ИК спектроскопии для определения наличия гликозидных связей и их количества [22, 23].

Статистическая обработка результатов: Результаты обрабатывали с использованием пакета лицензионных прикладных программ MS Excel (Office 2019) "IBMSPSS Statistics 23". Учитывая объем выборки в каждой группе, при оценке однородности групп использовали метод Шапиро-Уилка, достоверность различий средних между группами использовали параметрический метод t-критерий Стьюдента. Уровень статистической значимости полученных различий между сравниваемыми выборками принимали при $p < 0,05$. Данные были обобщены в среднее (M) и среднюю ошибку среднего значения (m).

Результаты исследований и их обсуждение. Для получения посевной дозы гриба методом глубинного культивирования была приготовлена стандартная жидкая глюкозопептонная среда следующего состава: пептон — 1,5 г/л, глюкоза — 15 г/л, NaCl — 0,5 г/л, CaCl₂—0,05 г/л, MgSO₄—0,5 г/л, K₂HPO₄—0,6 г/л, K₂HPO₄—0,4 г/л, дрожжевой экстракт — 1,5 г/л. Стерилизацию среды проводили автоклавированием в течение 40 мин при температуре 120,0 °C и давлении пара P= 0,5 атм. Дрожжевой экстракт стерилизовали отдельно в течение 30 мин при температуре 120,0 °C и давлении пара P= 0,5

атм. Выращивание культуры гриба проводили на лабораторной качалке при 120 об/мин (при непрерывном перемешивании) при 24,0 °C в колбах Эрленмейера с общим объемом 750,0 мл в 200,0 мл питательной среды. В результате предварительного культивирования получена исходная биомасса в количестве 5,0 г/л ± 5,0 мас.%. Посевная доза гриба для ферментера с рабочим объемом питательной среды 1750,0 мл составляла 170,0 мл, что соответствует 0,024 г/л сухого мицелия ± 5,0 мас.%.

Время культивирования *Phallus impudicus* составляло 144 ч; температура культивирования 28,0–29,0 °C; водородный показатель pH = 5,0–5,5; аэрация 1,50–1,75 л/мин; скорость вращения мешалки 200–275 об/мин. Биомассу гриба собирали после вакуумной фильтрации с использованием фильтров (Whatman № 2, Бакингемшир, Великобритания) с последующим ее трехкратным ополаскиванием деионизированной водой. Свежий мицелий переносили в предварительно взвешенные стеклянные флаконы Маккартни и массу мицелия фиксировали с точностью до четвертого знака на весах (Kern AGB, Брайсгау, Германия). Мицелий сушили во флаконах при 60,0 ± 1,0 °C в течение 3 сут и далее снова взвешивали. Величина продуцента составила 12,4 г мицелия на литр раствора. Отобранныю глубинную биомассу *Phallus impudicus* использовали для приготовления биологически активной субстанции. Приготовленный биологически активный препарат испытывали на 42-х дневных поросятах отъемышах после отсадки от свиноматки.

Предварительно нами проведен анализ заболеваемости и гибели животных по данным журналов учета, предоставленных хозяйством. По результатам обработки данных, установлено, что пик возникновения количества диарей также приходится на первую неделю после отъема поросят от свиноматки.

Таблица 2 – Динамика заболевания поросят диареями (на основе собственных данных, полученных при анализе документации в хозяйстве)

Возраст, дни	Заболеваемость, %	% падежа от заболевания
1-45	2	0,2
45-75	47	4,3
75-200	51	5,9
Итого	100	10,4

Перед проведением испытаний были изучены морфологические и иммунобиохимические показатели крови у 42-х дневных поросят (n= 30) в период отъема от свиноматки (средняя масса животных 8,5 ± 0,7 кг) через 3, 24, 48 и 72 часа после отъема, подтвердившие стрессовое состояние животных в данный период (таблица 3).

Таблица 3 – Иммунобиохимические показатели крови 42-х дневных поросят при отъемном стрессе

Показатели	Сроки исследования (ч)				
	до отъема	после отъема			
		3	24	48	72
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,9 ± 0,05*	7,5 ± 0,08*	7,1 ± 0,06*	7,6 ± 0,05*	8,3 ± 0,09*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	13,7 ± 1,1*	27,6 ± 1,8*	22,7 ± 1,3*	19,8 ± 1,1	14,9 ± 0,09*
Гемоглобин, г/л	93,3 ± 5,1	90,7 ± 6,2	87,3 ± 4,9	89,3 ± 6,1	90,7 ± 7,1
Активность лизоцима, %	15,7 ± 0,9*	23,8 ± 1,9*	20,3 ± 1,5	12,8 ± 0,9*	16,9 ± 1,3*
Иммуноглобулин G, г/л	14,9 ± 1,2*	21,7 ± 1,4*	16,5 ± 1,2*	11,9 ± 0,8*	14,7 ± 0,9*
Общий белок, г/л	75,3 ± 3,2**	71,3 ± 4,9	67,3 ± 5,2	51,3 ± 4,1*, **	48,2 ± 3,1**
Ионы натрия, ммоль/л	5,9 ± 0,3*	11,5 ± 1,1*	10,4 ± 0,9	8,5 ± 0,6	5,2 ± 0,4*
Глюкоза, ммоль/л	7,3 ± 0,5*	9,7 ± 0,6*	8,3 ± 0,4	6,1 ± 0,3*	6,8 ± 0,5

Примечание: различия статистически значимы при *p < 0,05 между сроками до отъема, 3, 24, 48 и 72 часа после отъема; различия статистически значимы при **p < 0,05 между сроками до отъема, 48 и 72 часа после отъема.

Как следует из представленных данных, в крови животных уже через 3 часа после отъема свиноматки увеличивается количество лейкоцитов, повышается активность лизоцима, уровень иммуноглобулина G, ионов натрия и глюкозы. Одновременно с этим уменьшается содержание эритроцитов, гемоглобина и общего белка, что типично для стрессовой реакции. Уже через сутки при снижении эритроцитов и лейкоцитов наблюдается снижение общего белка (на 10,6%) и увеличение уровня глюкозы на 12,05%. Тенденция снижения общего белка продолжается до 3-х суток после отъема и этот показатель фиксируется на уровне 48,2 г/л, что на 36% ниже, чем в период до отъема.

Учитывая, что поросята в это время подвержены большему риску инфекционных заболеваний, крайне важно обеспечить оптимальные условия содержания и питания животных, а также рассматривать возможность применения специализированных добавок, способствующих улучшению состояния их здоровья. Для снижения заболевания и гибели поросят совместно с рационом в утренние часы вводили препарат из мицелия гриба *Phallus impudicus* в дозе 100 мг/кг, второй опытной группе – 200 мг/кг.

Таблица 4 – Влияние препарата из мицелия гриба *Phallus impudicus* на рост, развитие и сохранность поросят отъемышей

Показатели, ед изм.	Контрольная группа (n=107) M±m	Опытная группа № 1 (100 мг/кг) (n=107) M±m	% к контролю	Опытная группа № 2 (200 мг/кг)(n=107) M±m	% к контролю
Живая масса поросят в начале опыта, кг	8,5± 0,7	8,3±0,4	97,65	8,1±0,6	95,3
Живая масса поросят в конце опыта (предубойная), кг	120,4± 6,4	125,4± 8,9	104,0	123,8± 7,3	102,75
Прирост массы на голову в течение опыта (1 – 3 сутки), кг	1,22±0,15	1,53±0,21	120,26	1,52±0,16	119,74
среднесуточный прирост живой массы в период скармливания препарата, г	406±45	510±72	120,4	506±53	119,8
Сохранность, %	81,5	95,8	115,0	94,2	113,5
Расход корма на 1кг прироста массы, кг	2,67± 0,13	2,51± 0,15	94,0	2,41± 0,13	90,26

Нами установлено, что применение в период отъема поросят препарата из мицелия гриба *Phallus impudicus* в дозе 100 мг/кг, улучшает сохранность молодняка, и снижает расход корма на 6% на 1 кг прироста живой массы, при этом поросята первой опытной группы в период применения препарата растут на 20,26% быстрее, их сохранность выше на 15%. К окончанию срока откорма живая масса поросят первой опытной группы на 4% выше, чем в контроле.

У поросят второй опытной группы с применением препарата из мицелия гриба *Phallus impudicus* в дозе 200 мг/кг сохранность молодняка была на 13,5% выше, чем в контроле, среднесуточный прирост живой массы в период проведения опыта был выше на 19,8 %, предубойная живая масса на 2,75% чем в контрольной группе, при этом во второй опытной группе снижается расход корма на 9,74%.

Заключение. В работе показано положительное влияние биологического препарата из мицелия гриба *Phallus impudicus* (Веселки обыкновенной), на рост массы и сохранность поросят после отъёма их у матки (рост массы на 3,1-3,4 кг, увеличение сохранности до 94,2-95,8 %). Описаны условия выращивания мицелия гриба *Phallus impudicus* методом глубинного культивирования.

Список источников

1. X. Xiong, J. Zhou, H.N. Liu, Y.L. Tang, B. Tan, Y.L. Yin Dietary lysozyme supplementation contributes to enhanced intestinal functions and gut microflora of piglets Food Funct, 10 (3) (2019), pp. 1696-1706
2. X. Xiong, H. S. Yang, X. C. Wang, Q. Hu, C. X. Liu, X. Wu, D. Deng, Y. Q. Hou, C. M. Nyachoti, D. F. Xiao, Y. L. Yin, Effect of low dosage of chito-oligosaccharide supplementation on intestinal morphology, immune response, antioxidant capacity, and barrier function in weaned piglets, Journal of Animal Science, Volume 93, Issue 3, March 2015, Pages 1089–1097, <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7851>
3. Campbell, J.M., Crenshaw, J.D. & Polo, J. The biological stress of early weaned piglets. *J AnimalSciBiotechnol* 4, 19 (2013). <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-19>
4. Кастулина М. В., Меркулов Е. А., Швец М. Ю. СТРЕСС-ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И РОСТ ПОРОСЯТ-ОТЪЕМЩЕЙ ПОСЛЕ ОТЪЕМА // Форум молодых ученых. 2021. №6 (58). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/stress-chuvstvitelnost-i-rost-porosyat-otemyshey-posle-otema>
5. Артузо-Понте, В. Постотъемная диарея у поросят: новая эра в решении проблемы / В. Артузо-Понте // Комбикорма. – 2018. – № 4. – С. 73. – EDNYURNRP.
6. Плященко, С.И. Стрессы у сельскохозяйственных животных /С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. – М.: Агропромиздат, 1987. – 192 с.
7. Белоус, Н. А. Анализ заболеваемости, лечения и профилактики диспепсии у поросят – сосунов / Н. А. Белоус // Знания молодых – будущее России: СБОРНИК СТАТЕЙ XXI МЕЖДУНАРОДНОЙ СТУДЕНЧЕСКОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ, Киров, 05–07 апреля 2023 года. – Киров: Вятский ГАТУ, 2023. – С. 6-9. – EDN IYYVWK.
8. J, Yan Z, Shi Y, Wang Z, Chen J, Li J, Li S, Wu W, Hu X, Li Y, Zhang X, Wu L, Zhu S, Yan Z, Wang Y, Guo X, Yu L, Li X. Investigation and analysis of porcine epidemic diarrhea cases and evaluation of different immunization strategies in the large-scale swine farming system. *Porcine Health Manag*. 2023 Aug 3;9(1):36. doi: 10.1186/s40813-023-00331-z. PMID: 37537653; PMCID: PMC10401829.
9. Ветвицкая, А. Диарея у поросят: эффективные шаги по защите поголовья / А. Ветвицкая // Эффективное животноводство. – 2020. – № 8(165). – С. 39-45. – EDNJHLSOB.
10. Бабицкая В.Г., Хлюстов С.В, Пленина Л.В. Физиологически активные соединения и биологическое действие глубинного мицелия базидиомицета *Ganoderma lucidum*. Биотехнология. - 2003. - № 4. - С. 33-44.
11. Zhong X, Wang G, Li F, Fang S, Zhou S, Ishiwata A, Tonevitsky AG, Shkurnikov M, Cai H, Ding F. Immunomodulatory Effect and Biological Significance of β -Glucans. *Pharmaceutics*. 2023 May 29;15(6):1615. doi: 10.3390/pharmaceutics15061615.
12. Филиппова И.А., Андреева Н.Л., Юшкевич Т.В., Разин А.Н. Изучение влияния препаратов из гриба Веселка обыкновенная (*Phallus impudicus*) на рост и развитие поросят отъемшей. Успехи медицинской микологии, 2021 том 22 стр. 380-386.
13. ПольскихС.В., ЖуковаМ.И. Влияние зернового мицелия Вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus* Fr. Kumm) на иммуномодулирующие свойства у поросят отъемшей в хозяйствах воронежской области. Агрономия. Дальневосточный аграрный вестник. 2018. №3(47) стр. 67
14. YuliangWu, XueLi, HongnanLiu, YanjunDu, JianZhou, LijunZou, XiaXiong, HuilinHuang, Zhiliang-Tan, YulongYin, Awater-soluble β -glucan improves growth performance by altering gut microbiome and health in weaned pigs, *Animal Nutrition*, Volume 7, Issue 4, 2021, Pages 1345-1351, ISSN 2405-6545, <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.04.006>.
15. GeirHetland, Jon-Magnus Tangen, Faiza Mahmood, Mohammad Reza Mirlashari, Lise Sofie Haug Nissen-Meyer, Ivo Nentwich, Stig Palm Therkelsen, GeirErlandTjønnfjord, Egil Johnson. Antitumor, Anti-Inflammatory and Antiallergic Effects of *Agaricus blazei* Mushroom Extract and the Related Medicinal Basidiomycetes Mushrooms, *Hericium erinaceus* and *Grifola frondosa*. // A Review of Preclinical and Clinical Studies. *Nutrients*. 2020 May 8; 12 (5):1339. doi: 10.3390/nu12 051 339.
16. Разин А. Н., Кулырова А. В. Изучение эффективности препарата «Веселка» в отношении ортопоксвирусной инфекции // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2016. № 4. С. 172.

17. Разин А. Н., Волков М. Ю., Вишневский В. В., Захаров Э. А. Системно-биологическое исследование влияния метаболитов *Phallusimpudicus* на кинетику роста возбудителей микозов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2020. Т. 97. № 2. С. 92.

References

1. X. Xiong, J. Zhou, H.N. Liu, Y.L. Tang, B. Tan, Y.L. Yin Dietary lysozyme supplementation contributes to enhanced intestinal functions and gut microflora of piglets Food Funct, 10 (3) (2019), pp. 1696-1706
2. X. Xiong, H. S. Yang, X. C. Wang, Q. Hu, C. X. Liu, X. Wu, D. Deng, Y. Q. Hou, C. M. Nyachoti, D. F. Xiao, Y. L. Yin, Effect of low dosage of chito-oligosaccharide supplementation on intestinal morphology, immune response, antioxidant capacity, and barrier function in weaned piglets, Journal of Animal Science, Volume 93, Issue 3, March 2015, Pages 1089–1097, <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7851>
3. Campbell, J.M., Crenshaw, J.D. & Polo, J. The biological stress of early weaned piglets. J Animal Sci Biotechnol 4, 19 (2013). <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-19>
4. Kastulina M. V., Merkulov E. A., Shvets M. Yu. STRESS SENSITIVITY AND GROWTH OF WEANED PIGLETS AFTER WEANING // Forum of Young Scientists. 2021. №6 (58). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/stress-chuvstvitelnost-i-rost-porosyat-otemyshay-posle-otema>
5. Artuso-Ponte, V. Post-weaning diarrhea in piglets: a new era in solving the problem / V. Artuso-Ponte // Compound feed. – 2018. – №. 4. – S. 73. – EDN YURNRP.
6. Pliashenko S.I., Sidorov V.T. *Stressy u selskokhozyastvennykh zhivotnykh* [Stress in farm animals]. Moscow, Agropromizdat [Agro-industrial publishing house], 1987. 192 p.
7. Belous, N. A. Analysis of the incidence, treatment and prevention of dyspepsia in suckling pigs / N. A. Belous // Knowledge of the young – the future of Russia: COLLECTION OF ARTICLES OF THE XXI INTERNATIONAL STUDENT SCIENTIFIC CONFERENCE, Kirov, 05-07 April 2023. – Kirov: Vyatka GATU, 2023. – pp. 6-9. – EDN IYYVWK.
8. Zhang B, Qing J, Yan Z, Shi Y, Wang Z, Chen J, Li J, Li S, Wu W, Hu X, Li Y, Zhang X, Wu L, Zhu S, Yan Z, Wang Y, Guo X, Yu L, Li X. Investigation and analysis of porcine epidemic diarrhea cases and evaluation of different immunization strategies in the large-scale swine farming system. Porcine Health Manag. 2023 Aug 3;9(1):36. doi: 10.1186/s40813-023-00331-z. PMID: 37537653; PMCID: PMC10401829.
9. Vetvitskaya, A. Diarrhea in piglets: effective steps to protect livestock / A. Vetvitskaya // Efficient animal husbandry. – 2020. – № 8(165). – Pp. 39-45. – EDN JHLSOB.
10. Babitskaya V.G., Khliustov S.V, Plenina L.V. Physiologically active compounds and biological effect of basidiomycete deep mycelium *Ganoderma lucidum*. *Biotehnologiya* [Biotechnology], 2003, no.4, pp. 33-44.(in Russian)
11. Zhong X, Wang G, Li F, Fang S, Zhou S, Ishiwata A, Tonevitsky AG, ShkurnikovM, CaiH, DingF. ImmunomodulatoryEffectandBiologicalSignificanceof β -Glucans. *Pharmaceutics*. 2023 May 29;15(6):1615. doi: 10.3390/pharmaceutics15061615.
12. Philippova I.A., Andreeva N.L., Yushkevich T.A., RazinA.N. Study of the effect of preparations from the *Veselka obyknovennaya* mushroom (*Phallus impudicus*) on the growth and development of weaned piglets. *Uspekhi meditsinskoy mikologii* [Advances in medical mycology], 2021,vol.22,pp. 380-386.(in Russian)
13. Polskikh S.V., Zhukova M.I. The effect of grainmycelium of *Veshenka obyknovennaya* mushroom (*Pleurotus ostreatus* Fr.Kumm) on immunomodulatory properties in weaned pigletsin farms of the Voronezh region. *Agronomiya. Dalnevostochniy agrarniy vestnik* [Agronomy. Far EasternAgrarianBulletin], 2018,no.3(47),p.67. (in Russian)
14. Yuliang Wu, Xue Li, Hongnan Liu, Yanjun Du, Jian Zhou, Lijun Zou, Xia Xiong, Huilin Huang, Zhiliang Tan, Yulong Yin, A water-soluble β -glucan improves growth performance by altering gut microbiome and health in weaned pigs, *Animal Nutrition*, Volume 7, Issue 4, 2021, Pages 1345-1351, ISSN 2405-6545, <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.04.006>.
15. Geir Hetland, Jon-Magnus Tangen, Faiza Mahmood, Mohammad Reza Mirlashari, Lise Sofie Haug Nissen-Meyer, Ivo Nentwich, Stig Palm Therkelsen, GeirErlandTjønnfjord, Egil Johnson. Antitumor, Anti-Inflammatory and Antiallergic Effects of *Agaricusblazei* Mushroom Extract and the Related Medicinal Basidiomycetes Mushrooms, *Hericiumerinaceus* and *Grifolafrondosa*. // A Review of Preclinical and Clinical Studies. *Nutrients*. 2020 May 8; 12 (5):1339. doi: 10.3390/nu12 051 339.

16. Razin A.N., Kulyrova A.V. The study of the effective enesso of the drug "Veselka" in relation to orthopox virus infection. *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii* [Issues of legal regulation in-veterinary medicine]. 2016, no.4, p.172.(inRussian)
17. Razin A.N., Volkov M.Y., Vishnevskiy V.V., Zakharov E.A. Systemicbiological study of the effect of Phallus impudicus metabolites on the growth kinetics of mycosispathogens. *Voprosy kurortologii, fizioterapii I lechebnoy fizicheskoy kultury* [Issues of balneology, physiotherapy and therapeutic physical education]. 2020,vol.97,no.2. p.92.(inRussian)

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 04.09.2025;

© Разин А. Н., Пименов Н. В., Комоско Г. В., Комоско В. Г., Волков М. Ю., Беловолов А. Ю., Сюткина А. С. 2025

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИИБ»)

Главный редактор **Мингалеев Данил Наильевич** - доктор ветеринарных наук, профессор, профессор АН РТ

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.

Гулукин 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.

Коломиц 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, чл.-корр. 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.

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.

Саитов В.Р. - доктор биологических наук, г. Казань.

Спиридовон 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.

Технический редактор – А.А. Осянина

Подписной индекс: в Российской Федерации «Объединенный каталог Прессы России. Газеты и журналы» - 43596

Зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство ПИ № ФС 77-77647 от 31.01.2020 г.

Адрес редакции, издателя
420075, г. Казань, Научный городок-2
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИИБ»
Тел./факс: (843) 239-71-73
E-mail: vetrach@vnivi.ru

Выход в свет – 15.10.2025 г. Тираж 1350 экз. Свободная цена
Журнал входит в перечень рецензируемых научных изданий ВАК

Отпечатано в типографии «Альянс» г. Казань, Сибирский тракт 34.

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

EDITORIAL COUNCIL

Aliev 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.

Devriшов 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.

EDITORIAL BOARD

Bagaeva 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.

Technical editor – A. A. Osyanna

Subscription index: the Russian Federation "United catalogue. Russian Press. Newspapers and magazines" - 43596

Editorial, Publisher Address
420075 Kazan, Nauchnyi Gorodok -2
FSBSI «FCTRBS-ARRVI»
Tel./Fax: (843) 239-71-73
E-mail: vetrach@vnivi.ru



