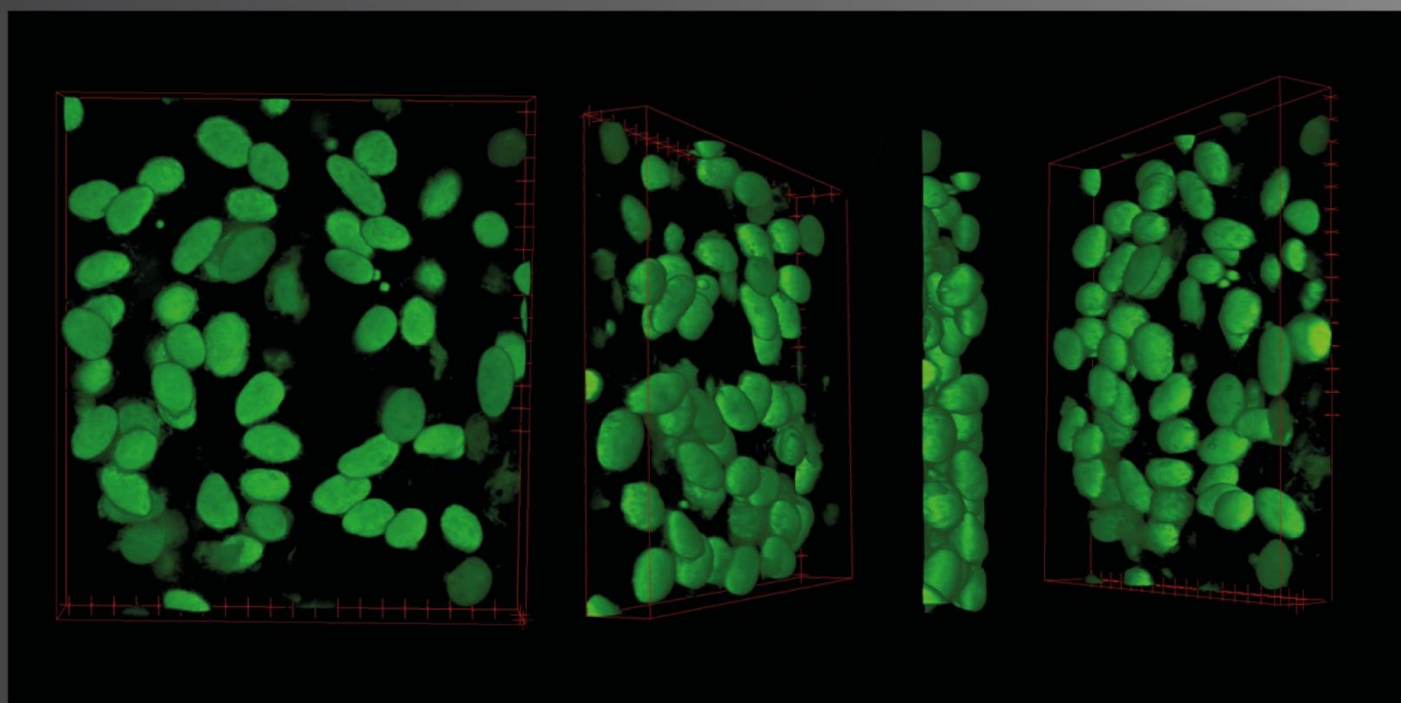


# Ветеринарная патология

Паразитология / Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология / Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность / Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства / Инфекционные болезни и иммунология животных / Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных



Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия фрагмента конструктора, окрашенного SYTOX® Green.

Трехмерная реконструкция выполнена в программе ImageJ (Rasband, 1997-2018).

Авторы: Головин С.Н., Кириченко Е.Ю., Седова Д.А.

Донской государственный технический университет. 2025 год.





ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

# Ветеринарная патология

## Russian Journal of Veterinary Pathology

Рецензируемый научно-практический журнал

eISSN 2949-4826

Издается с 2002 года

Периодичность – 4 выпуска в год

DOI: 10.23947/2949-4826



Медаль Отделения ветеринарной  
медицины РАСХН  
«За достижения в области  
ветеринарной науки». Вручена  
редакции журнала в 2009 г.

**Учредитель и издатель — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Донской государственный технический университет» (ДГТУ), г. Ростов-на-Дону**

«Ветеринарная патология» — рецензируемый научно-практический журнал, в котором публикуются результаты оригинальных исследований и обзорные статьи в области ветеринарной медицины. Освещаются вопросы паразитологии, физиологии, фармакологии, экологии, уделяется внимание инфекционным болезням и другим аспектам ветеринарии домашних, сельскохозяйственных и диких животных.

Цель журнала заключается в повышении профессионального уровня знаний профильной аудитории и распространении по всему миру высокоэффективных, тщательно проверенных ветеринарных научных исследований, используя только онлайн-формат открытого доступа для максимальной доступности.

**Журнал включен в перечень рецензируемых научных изданий (К2), в котором должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК) по следующим научным специальностям:**

- 1.5.17 – Паразитология (биологические науки, ветеринарные науки)
- 4.2.1 – Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (биологические науки, ветеринарные науки)
- 4.2.2 – Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (биологические науки, ветеринарные науки)
- 4.2.3 – Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки, биологические науки)
- 4.2.4 – Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (биологические науки, сельскохозяйственные науки)
- 4.2.5 – Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (биологические науки, сельскохозяйственные науки)

---

<i>Регистрация:</i>	Выписка из реестра зарегистрированных средств массовой информации ЭЛ № ФС 77-85552 от 27.06.2023 г., выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
<i>Индексация и архивация:</i>	РИНЦ, DOAJ, AGRIS, CyberLeninka, CrossRef, Internet Archive, Google Scholar
<i>Сайт:</i>	<a href="https://www.vetpat.ru/">https://www.vetpat.ru/</a>
<i>Адрес редакции:</i>	344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1
<i>E-mail:</i>	<a href="mailto:vetpat@donstu.ru">vetpat@donstu.ru</a>
<i>Телефон:</i>	+7 (863) 273-85-08
<i>Дата выхода №3, 2025 в свет:</i>	30.09.2025





# Russian Journal of Veterinary Pathology

## Veterinarnaya Patologiya

Peer-reviewed scientific and practical journal

eISSN 2949-4826

Published since 2002

Periodicity – 4 issues per year

DOI: 10.23947/2949-4826



The medal “For Achievements  
in the Field of Veterinary Science”  
by the Veterinary Medicine  
Department of the Russian  
Academy of Agricultural Sciences.  
Awarded to the editorial board  
in 2009.

**Founder and Publisher — Don State Technical University (DSTU), Rostov-on-Don, Russian Federation**

The “Russian Journal of Veterinary Pathology” is a peer-reviewed scientific and practical journal that publishes the results of the original research and review articles in the field of veterinary medicine. It covers the issues of parasitology, physiology, pharmacology, ecology, and considers the aspects of infectious diseases and other matters of veterinary medicine of companion, farm and wild animals.

The journal aims at enhancing the level of professional knowledge of the target audience and to disseminate worldwide the highly efficient, thoroughly verified scientific research in the field of veterinary medicine using an online open access format for maximum accessibility.

The journal is included in the List of the leading peer-reviewed scientific publications (Higher Attestation Commission under the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation), where the main scientific results of dissertations for the degrees of Doctor and Candidate of Science in the following scientific specialties should be published.

- Parasitology
- Animal Pathology, Morphology, Physiology, Pharmacology and Toxicology
- Sanitation, Hygiene, Ecology, Veterinary and Sanitary Expertise and Biosafety
- Infectious Diseases and Animal Immunology
- Zootechnics, Feeding, Technologies of Feed Preparation and Livestock Products Production
- Breeding, Selection, Genetics and Animal Biotechnology

---

<i>Registration</i>	Extract from the Register of Registered Mass Media ЭЛ № ФС 77 – 85552 dated June 27, 2023, issued by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media
<i>Indexing and Archiving</i>	RISC, DOAJ, AGRIS, CyberLeninka, CrossRef, Internet Archive, Google Scholar
<i>Website</i>	<a href="http://www.vetpat.ru/">http://www.vetpat.ru/</a>
<i>Address of the Editorial Office</i>	1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don 344003, Russian Federation
<i>E-mail</i>	<a href="mailto:vetpat@donstu.ru">vetpat@donstu.ru</a>
<i>Telephone</i>	+7 (863) 273-85-08
<i>Date of Publication No.3,2025</i>	30.09.2025



## Редакционная коллегия

### Главный редактор

**Ермаков Алексей Михайлович**, доктор биологических наук, профессор, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

### Заместитель главного редактора

**Аксенова Полина Владимировна**, доктор биологических наук, профессор, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

**Тодоров Святослав Димитров**, Ph.D, Университет Сан-Паулу (Сан-Паулу, Бразилия)

### Выпускающий редактор

**Калошкина Инна Муратовна**, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела противопаразитарных, ветеринарно-санитарных мероприятий ГКУ КСББЖ «Краснодарская» (Краснодар, Российская Федерация)

### Ответственный секретарь

**Ламтева Алина Владимировна**, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

**Алипер Тарас Иванович**, доктор биологических наук, профессор, Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи (Москва, Российская Федерация)

**Аммар Альгбури**, Ph.D (биология), декан ветеринарного факультета, Университет Дияла (Баакуба, Ирак)

**Алешукина Анна Валентиновна**, доктор медицинских наук, Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

**Ариунболд Жаргалсайхан**, Ph.D, Монгольский государственный университет образования (Улан-Батор, Монголия)

**Белова Лариса Михаловна**, доктор биологических наук, профессор, Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины (Санкт-Петербург, Российская Федерация)

**Бондарь Игорь Вечеславович**, доктор биологических наук, Заведующий лабораторией физиологии сенсорных систем, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (Москва, Российская Федерация)

**Брюя Жан-Франсуа**, DVM, Ph.D, лауреат Университета Поля Сабатье, дипломант Европейского колледжа репродукции животных (ECAR), президент Французской ассоциации по изучению репродукции животных, член экзаменационной комиссии Европейского колледжа репродукции животных (ECAR), профессор териогенологии Национального колледжа ветеринарной медицины, пищевых наук и инженерии (Нант, Франция)

**Ватников Юрий Анатольевич**, доктор ветеринарных наук, профессор, Российский университет дружбы народов (Москва, Российская Федерация)

**Верховский Олег Анатольевич**, доктор биологических наук, профессор, Научно-исследовательский институт диагностики и профилактики болезней человека и животных (Москва, Российская Федерация)

**Дерезина Татьяна Николаевна**, доктор биологических наук, профессор, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

**Дилекова Ольга Владимировна**, доктор биологических наук, доцент, Ставропольский государственный аграрный университет (Ставрополь, Российская Федерация)

**Карташов Сергей Николаевич**, доктор биологических наук, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

**Квочко Андрей Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, Ставропольский государственный аграрный университет (Ставрополь, Российская Федерация)

**Клименко Александр Иванович**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Донской государственной аграрный университет (пос. Персиановский, Ростовская область, Российская Федерация)

**Коняев Сергей Владимирович**, кандидат биологических наук, главный врач ветеринарной клиники «АС Вет» (Новосибирск, Российская Федерация)

**Кун Венема**, Ph.D (естественные науки), профессор, Маастрихтский университет (Маастрихт, Нидерланды);

**Макаров Владимир Владимирович**, доктор биологических наук, профессор, Российский университет дружбы народов (Москва, Российская Федерация)

**Недосеков Виталий Владимирович**, доктор ветеринарных наук, профессор, Институт ветеринарной медицины Национального аграрного университета (Киев, Украина)

**Онорлагчаа Ганболд**, Ph.D, Монгольский государственный университет образования (Улан-Батор, Монголия)

**Паршин Павел Андреевич**, доктор ветеринарных наук, профессор, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии (Воронеж, Российская Федерация)

**Сотникова Лариса Федоровна**, доктор ветеринарных наук, профессор, Российский биотехнологический университет (Москва, Российская Федерация)

**Стекольников Анатолий Александрович**, доктор ветеринарных наук, профессор, ректор, Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины (Санкт-Петербург, Российская Федерация)

**Степанова Марина Вячеславовна**, доктор ветеринарных наук, доцент, Российский биотехнологический университет (Москва, Российская Федерация)

**Твердохлебова Татьяна Ивановна**, доктор медицинских наук, Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

**Фернандо Саймон Мартин**, профессор Университета Саламанки (Саламанка, Испания)

**Чикиндас Михаил Леонидович**, кандидат биологических наук, доцент, Рутгерский государственный университет штата Нью-Джерси (Нью-Брансвик, США)

**Чистяков Владимир Анатольевич**, доктор биологических наук, Академия биологии и биотехнологии, Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

**Урошевич Миливоје**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член Академии ветеринарной медицины – Сербского ветеринарного общества, директор по научной работе, Центр сохранения аборигенных пород (Белград, Сербия)

## Editorial Board

### Editor-in-Chief

**Alexey M. Ermakov**, Dr.Sci. (Biology), Professor, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

### Deputy Chief Editor

**Polina V. Aksenova**, Dr.Sci. (Biology), Professor, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

**Svetoslav D. Todorov**, Ph.D, University of São Paulo (São Paulo, Brazil)

### Executive Editor

**Inna M. Kaloshkina**, Cand.Sci. (Veterinary Medicine), Head of the Antiparasitic, Veterinary and Sanitary Activities Department, State-Funded Institution of the Krasnodar Region “Krasnodar Regional Station for Combating Animal Diseases” (Krasnodar, Russian Federation)

### Executive Secretary

**Alina V. Lamteva**, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

**Alexander I. Klimenko**, Dr.Sci. (Agriculture), Professor, Don State Agrarian University (Persianovsky Settlement, Russian Federation)

**Ammar Algburi**, Ph.D. (Biology), Dean of the Veterinary Faculty, Diyala University (Baakuba, Iraq)

**Anatoly A. Stekolnikov**, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine (Saint Petersburg, Russian Federation)

**Andrey N. Kvochko**, Dr.Sci. (Biology), Professor, Stavropol State Agrarian University (Stavropol, Russian Federation)

**Anna V. Aleshukina**, Dr.Sci. (Medicine), Rostov Scientific Research Institute of Microbiology and Parasitology (Rostov-on-Don, Russian Federation)

**Ariunbold Jargalsaikhan**, Ph.D., Mongolian State University of Education (Ulaanbaatar, Mongolia)

**Fernando Simón Martín**, Professor, University of Salamanca (Salamanca, Spain)

**Igor V. Bondar**, Dr.Sci. (Biology), Head of the Physiology of Sensory Systems Laboratory, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russian Federation)

**Jean-François Bruyas**, D.V.M, Ph.D., Laureate of the Paul Sabatier University, Diplomat of the European College of Animal Reproduction (ECAR), President of the French Association for the Study of Animal Reproduction, Member of the Exam Committee of the European College of Animal Reproduction (ECAR), Professor of theriogenology, National College of Veterinary Medicine, Food Science and Engineering (Nantes, France)

**Koen Venema**, Ph.D (Natural Sciences), Maastricht University (Maastricht, Netherlands)

**Larisa F. Sotnikova**, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Russian Biotechnological University (Moscow, Russian Federation)

**Larisa M. Belova**, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine (Saint Petersburg, Russian Federation)

**Marina V. Stepanova**, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Russian Biotechnological University (Moscow, Russian Federation)

**Michael L. Chikindas**, Cand.Sci. (Biology), Associate Professor of Food Science Department, Rutgers University, the State University of New Jersey (New Brunswick, USA)

**Milivoje Urošević**, Dr.Sci. (Agriculture), Full Research Professor, Member of the Veterinary Medicine Academy – Serbian Veterinary Society, Research Director, Center for Preservation of Indigenous Breeds (Belgrade, Serbia)

**Oleg A. Verkhovsky**, Dr.Sci. (Biology), Professor, Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases (Moscow, Russian Federation)

**Olga V. Dilekova**, Dr.Sci. (Biology), Associate Professor, Stavropol State Agrarian University (Stavropol, Russian Federation)

**Onolragchaa Ganbold**, Ph.D., Mongolian State University of Education (Ulaanbaatar, Mongolia)

**Pavel A. Parshin**, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (Voronezh, Russian Federation)

**Sergey N. Kartashov**, Dr.Sci. (Biology), Professor of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

**Sergey V. Konyaev**, Cand.Sci. (Biology), Chief Medical Officer of the Veterinary Clinic “AS Vet” (Novosibirsk, Russian Federation)

**Taras I. Aliper**, Dr.Sci (Biology), Professor, National Research Center for Epidemiology and Microbiology Named after Honorary Academician N.F. Gamaleya (Moscow, Russian Federation)

**Tatyana I. Tverdokhlebova**, Dr.Sci. (Medicine), Rostov Scientific Research Institute of Microbiology and Parasitology (Rostov-on-Don, Russian Federation)

**Tatyana N. Derezina**, Dr.Sci. (Biology), Professor of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

**Vitalii V. Nedosekov**, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor of the Institute of Veterinary Medicine, National Agrarian University (Kiev, Ukraine)

**Vladimir A. Chistyakov**, Dr.Sci. (Biology), Academy of Biology and Biotechnology of Southern Federal University, (Rostov-on-Don, Russian Federation)

**Vladimir V. Makarov**, Dr.Sci. (Biology), Professor, Honoured Scholar of the Russian Federation, Professor, Peoples’ Friendship University of Russia (Moscow, Russian Federation)

**Yurii A. Vatnikov**, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Peoples’ Friendship University of Russia (Moscow, Russian Federation)

## Содержание

### ПАРАЗИТОЛОГИЯ

#### Трихинеллез у барсука в Ростовской области (юг России)

*А.П. Евсюков, И.О. Потапенко, А.П. Зеленков, Г.А. Зеленкова* ..... 7

### ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

#### Анатомо-морфологические характеристики и патологические изменения у бирманского питона (*Rython molurus bivittatus*), выращенного в условиях неволи

*Е.Н. Любченко, М.Ю. Дьяченко, Д.А. Попова* ..... 14

#### Субхроническая токсичность инсектоакарицидного средства на основе D-цифенотрина, пиперонилбутоксиды и пирипроксифена при наружном применении у яичных цыплят

*Е.Н. Индюхова* ..... 26

#### Морфологические свойства и гистогенез нодальной лимфомы у собак

*Н.В. Митрохина, Л.Ф. Сотникова* ..... 34

#### Разработка методики получения биоэквивалента соединительной ткани кролика

*С.Н. Головин, Е.Ю. Кириченко, Д.А. Седова* ..... 43

### ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

#### Доклинические испытания усовершенствованной «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной» на белых мышях и кроликах

*В.В. Евстифеев, И.Р. Акбашев, Ф.М. Хусаинов, С.И. Яковлев, Р.З. Хамидуллина, С.В. Иванова* ..... 53

## Contents

### PARASITOLOGY

- Trichinellosis in Badgers in the Rostov Region (Southern Russia)**  
*Aleksandr P. Evsyukov, Igor O. Potapenko, Alexey P. Zelenkov, Galina A. Zelenkova* ..... 7

### ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

- Anatomical and Morphological Characteristics of Burmese Python (*Python Molurus Bivittatus*) Raised in Captivity and Pathological Changes in It**

*Elena N. Lyubchenko, Maksim Yu. Dyachenko, Darya A. Popova* ..... 14

- Subchronic Toxicity of D-Cyphenothrin-, Piperonyl Butoxide- and Pyriproxyfen-Based Insecticide-Acaricide upon Its External Use in Laying Chickens**  
*Evgenia N. Indyuhova* ..... 26

- Morphological Features and Histogenesis of Canine Nodal Lymphoma**  
*Natalia V. Mitrokhina, Larisa F. Sotnikova* ..... 34

- Development of a Methodology for Obtaining Connective Tissue Bioequivalent from Rabbits**  
*Sergey N. Golovin, Evgeniya Yu. Kirichenko, Darya A Sedova* ..... 43

### INFECTIOUS DISEASES AND ANIMAL IMMUNOLOGY

- Preclinical Trials in White Mice and Rabbits of the Improved “Associated Inactivated Emulsion Vaccine against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovine Viral Diarrhea/Mucosal Disease (BVD), Bovine Parainfluenza Virus 3 (BPIV-3) and Chlamydia in Cattle”**  
*Vitaly V. Evstifeev, Ilgizar R. Akbashev, Fidail M. Khusainov, Sergey I. Yakovlev, Razina Z. Khamidullina, Svetlana V. Ivanova* ..... 53

# ПАРАЗИТОЛОГИЯ

## PARASITOLOGY



УДК 576.895.132:616.995.132

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-7-13>

### Трихинеллез у барсука в Ростовской области (юг России)

 А.П. Евсюков<sup>1</sup> , И.О. Потапенко<sup>1</sup> , А.П. Зеленков<sup>1,2</sup> , Г.А. Зеленкова<sup>1,2</sup> 
<sup>1</sup> Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация<sup>2</sup> Федеральный центр по изучению и воспроизводству охотничьих ресурсов, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация✉ [aevsukov@mail.ru](mailto:aevsukov@mail.ru)

EDN: VQIJZO

#### Аннотация

**Введение.** Нематоды рода *Trichinella* — возбудители трихинеллеза, поражающего людей и животных и наносящего значительный экономический ущерб сельскому хозяйству и пищевой промышленности, особенно в сфере безопасности продуктов питания. В настоящее время род *Trichinella* включает 10 видов и 3 генотипа, которые разделяются на 2 клады: капсулообразующие и бескапсульные. Циркуляция трихинелл в дикой природе происходит при участии обширного круга животных-трихинеллоносителей, и барсук является одним из основных природных резервуаров заболевания. В статье приводятся сведения о первом случае обнаружения личинок трихинелл у барсука в Ростовской области.

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужила туша барсука, добытая охотниками в Шолоховском районе Ростовской области в августе 2024 г. Выявление и изучение личинок и капсул в образцах проводили методом компрессорной трихинеллоскопии. В дальнейшем из отдельных мышц были изготовлены гистологические срезы, которые окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике.

**Результаты исследования.** Капсулы трихинелл были обнаружены во всех исследованных мышцах животного. Наибольшее их количество найдено в диафрагме и ее ножках. Обнаруженные личинки относились к инкапсулирующим и располагались в капсулах группами или по одной. На гистологических срезах капсулы имели толстые коллагеновые стенки, окруженные снаружи тонкими соединительнотканными оболочками. Результаты морфометрии капсул показали, что они не отличаются по размерам в зависимости от локализации в теле барсука, форма капсул во всех мышцах была почти круглой.

**Обсуждение и заключение.** Индексы формы капсул, рассчитанные по результатам морфометрии, более близки к соответствующим показателям *T. nativa*, чем *T. spiralis*, однако это не позволяет делать точные выводы относительно видовой принадлежности трихинелл, поскольку для точной диагностики необходимы молекулярно-генетические исследования или использование вестерн-блота. Таким образом, изучение распространения и видового состава трихинелл по-прежнему остается крайне актуальной задачей, требующей дальнейших исследований как в нашем регионе, так и по всему миру.

**Ключевые слова:** *Trichinella*, *Meles meles*, трихинеллез, морфометрия, личинки, капсулы

**Благодарности.** Авторы статьи выражают благодарность охотникам, предоставившим для исследования тушу барсука. Также авторы признательны М.С. Капле (ДГТУ) за изготовление гистологических срезов.

**Для цитирования.** Евсюков А.П., Потапенко И.О., Зеленков А.П., Зеленкова Г.А. Трихинеллез у барсука в Ростовской области (юг России). *Ветеринарная патология*. 2025;24(3):7–13. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-7-13>

**Trichinellosis in Badgers in the Rostov Region (Southern Russia)**Aleksandr P. Evsyukov<sup>1</sup>✉, Igor O. Potapenko<sup>1</sup> , Alexey P. Zelenkov<sup>1,2</sup> , Galina A. Zelenkova<sup>1,2</sup> <sup>1</sup> Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russian Federation<sup>2</sup> Federal Center for the Study and Reproduction of Hunting Resources, Rostov-on-Don, Russian Federation✉ [aevsukov@mail.ru](mailto:aevsukov@mail.ru)**Abstract**

**Introduction.** Nematodes of the genus *Trichinella* are the causative agents of trichinellosis, which affects humans and animals and causes significant economic damage to agricultural and food industries, especially with regard to food safety. Currently, the genus *Trichinella* includes 10 species and 3 genotypes, which are divided into 2 clades: encapsulated and non-encapsulated. In the wildlife, a wide range of animals participate as carriers in circulation of *Trichinella*, and badgers are one of the main natural reservoirs for this disease. The article provides the information on detection of the first case of *Trichinella* larvae in a badger in the Rostov region.

**Materials and Methods.** The object of the study was a carcass of a badger hunted in the Sholokhov district of the Rostov region in August 2024. Detection with further study of larvae and capsules in the samples was carried out by the method of compressor trichinelloscopy. Afterwards, histological sections were made from the individual muscles, which were stained with hematoxylin and eosin according to the standard technique.

**Results.** Capsules of *Trichinella* were found in all the examined muscles of an animal. The largest number of them was found in the diaphragm and its crura. The larvae found belonged to the encapsulated ones and were located in capsules in groups or one at a time. Histological sections showed thick collagen shells of the capsules surrounded from the outside by thin membranes of connective tissue. The results of capsule morphometry showed that their size didn't differ depending on their location in the badger's body; the shape of the capsules in all muscles was almost round.

**Discussion and Conclusion.** The capsule shape indices calculated based on the morphometric results are closer to the corresponding indices of *T. nativa* than *T. spiralis*, however, this does not allow us to make fully accurate conclusions about the species membership of *Trichinella*, since the molecular genetic studies or the use of Western blot are required for precise diagnostics. Thus, the study of *Trichinella* species distribution and composition remains an extremely relevant objective that requires further research both in our region and worldwide.

**Keywords:** *Trichinella*, *Meles meles*, trichinellosis, morphometry, larvae, capsules

**Acknowledgements.** The authors are grateful to the hunters who provided the carcass of a badger for the study. The authors are also grateful to M.S. Kaple (DSTU) for preparing histological sections.

**For Citation.** Evsyukov AP, Potapenko IO, Zelenkov AP, Zelenkova GA. Trichinellosis in Badgers in the Rostov Region (Southern Russia). *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2025;24(3):7–13. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-7-13>

**Введение.** Нематоды рода *Trichinella*, относящегося к семейству Trichinellidae, являются возбудителями трихинеллеза — кишечного и тканевого гельминтоза, представляющего собой одну из наиболее серьезных и распространенных угроз для здоровья человека среди зоонозных инфекций [1]. У человека данное заболевание зарегистрировано в 55 странах мира [2]. Помимо негативного воздействия на общественное здоровье, трихинеллез наносит значительный экономический ущерб сельскому хозяйству и пищевой промышленности, особенно в сфере безопасности продуктов питания.

Трихинеллы имеют простой и при этом уникальный жизненный цикл. Энтеральная фаза начинается с момента употребления мяса, содержащего тканевые капсулы. Личинки высвобождаются из капсул под действием желудочного сока и в течение нескольких часов мигрируют в тонкий кишечник, где внедряются в столбчатый эпителий. Там они проходят 4 линьки до взрослой

стадии и начинают спариваться через 30 часов после заражения. На 4-й день новорожденные личинки мигрируют через кровеносную систему к поперечнополосатой мускулатуре и проникают в мышечные клетки. Здесь капсулообразующие виды формируют коллагеновые капсулы и развиваются в инвазионную форму через 15–20 дней [3]. Личинки бескапсульных видов, вероятно, могут перемещаться между слоями мышц [4]. Таким образом, можно выделить характерную особенность жизненного цикла трихинелл — любое животное, у которого они паразитируют, является для них и окончательным и промежуточным хозяином.

В настоящее время род *Trichinella* включает 10 видов и 3 генотипа, не имеющих таксономического статуса. Все известные виды и генотипы явно разделяются на 2 клады. Одна кллада включает трихинелл, которые инкапсулируются в мышечных тканях хозяина

и способны заражать млекопитающих. К ней относятся *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. murrelli*, *T. nelsoni*, *T. patagoniensis*, *T. chanchalensis* и генотипы, обозначаемые как Т6, Т8 и Т9. Вторая кладка включает три вида трихинелл, которые не инкапсулируются: среди них один вид заражает млекопитающих и птиц (*T. pseudospiralis*); а два вида паразитируют на млекопитающих и рептилиях (*T. papuae* и *T. zimbabwensis*) [3, 5]. Все вышеперечисленные виды и генотипы трихинелл представляют опасность как для животных, так и для человека. В Ростовской области ранее отмечался в основном один вид — *T. spiralis* [например, 6]. В Краснодарском крае зарегистрированы случаи обнаружения у свиней некапсулирующего вида *T. pseudospiralis* [7].

Циркуляция трихинелл в дикой природе происходит при участии обширного круга животных-трихинеллоносителей, насчитывающего около 100 разнообразных видов, включая хищников и всеядных животных [8]. Барсук (*Meles meles*) является одним из основных природных резервуаров трихинеллеза [9]. В Ростовской области, как и в целом по стране, барсуки часто становятся главной добычей охотников. Согласно данным, опубликованным на сайте Министерства природных ресурсов и экологии в июле 2024 г.<sup>1</sup>, численность популяции барсуков в Ростовской области составляет 2556 особей, а лимит добычи — 3,91 % от численности. Это достаточно высокий уровень, однако несмотря на это происходит и браконьерская охота, в результате чего мясо животных не проверяется и, в случае употребления человеком или животными, может привести к заражению трихинеллезом.

В данной статье мы приводим сведения о первом случае нахождения личинок трихинелл у барсука в Ростовской области.

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужила туша барсука, добытая охотниками на терри-

тории Вешенского производственного опытно-охотничьего участка (Шолоховский район, север Ростовской области) в августе 2024 г. Для исследования были взяты различные группы мышц: ножки диафрагмы, диафрагма, межреберные мышцы, мышцы шеи, мышцы бедра. Выявление и изучение личинок и капсул в указанных образцах проводили методом компрессорной трихинеллоскопии. В дальнейшем из отдельных мышц были изготовлены гистологические срезы, которые окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике. Измерение капсул на нативных образцах и фотографирование проводилось с использованием микроскопа Levenhuk MED D45 (Levenhuk Inc., КНР) и программного обеспечения LevenhukLite. Индекс формы капсулы (V) рассчитывался как отношение длины капсулы (L) к ее диаметру (D). Данный индекс используется для оценки формы округлых объектов, в т. ч. капсул трихинелл [10, 11].

**Результаты исследования.** Капсулы трихинелл были обнаружены во всех исследованных мышцах животного. Наибольшее их количество найдено в диафрагме и ее ножках. Ранее отмечалось, что у барсука наиболее инвазированы мышцы головы, в частности, челюстно-подъязычная мышца [12], которые мы при подготовке данной работы не исследовали.

Обнаруженные нами личинки относятся к инкапсулирующим. Личинки располагаются в капсулах группами или по одной (рис. 1 а, б). Гистологические срезы показали, что капсулы имеют толстые коллагеновые стенки, окруженные снаружи тонкими соединительнотканными оболочками, сформированными организмом хозяина (рис. 1 в, г).

По полученным данным морфометрии капсул (таблица 1) можно заметить, что они практически не отличаются по размерам в зависимости от локализации в теле барсука. Форма капсул во всех мышцах была почти круглой ( $V \approx 0,79$ ).

Таблица 1

Морфометрические показатели капсул трихинелл в различных мышцах барсука

Исследованные мышцы	Количество капсул	Диаметр капсул (D), мм	Длина капсул (L), мм	Индекс формы (V)
Ножки диафрагмы	20	0,441±0,010	0,349±0,008	0,797±0,020
Диафрагма	20	0,438±0,007	0,342±0,020	0,791±0,010
Межреберные	20	0,440±0,009	0,348±0,010	0,790±0,008
Шеи	20	0,438±0,011	0,349±0,015	0,798±0,012
Бедренные	10	0,437±0,020	0,350±0,011	0,801±0,020

<sup>1</sup> Распоряжение губернатора Ростовской области от 17.07.2024 №175 «Об утверждении лимитов добычи охотничьих ресурсов на территории Ростовской области на период с 1 августа 2024 г. до 1 августа 2025 г.» URL: <https://минприродыро.рф/upload/uf/5b8/n4ub6dzirjhm4tivr963j39r4zpdks/limity.pdf> (дата обращения: 05.08.2025).

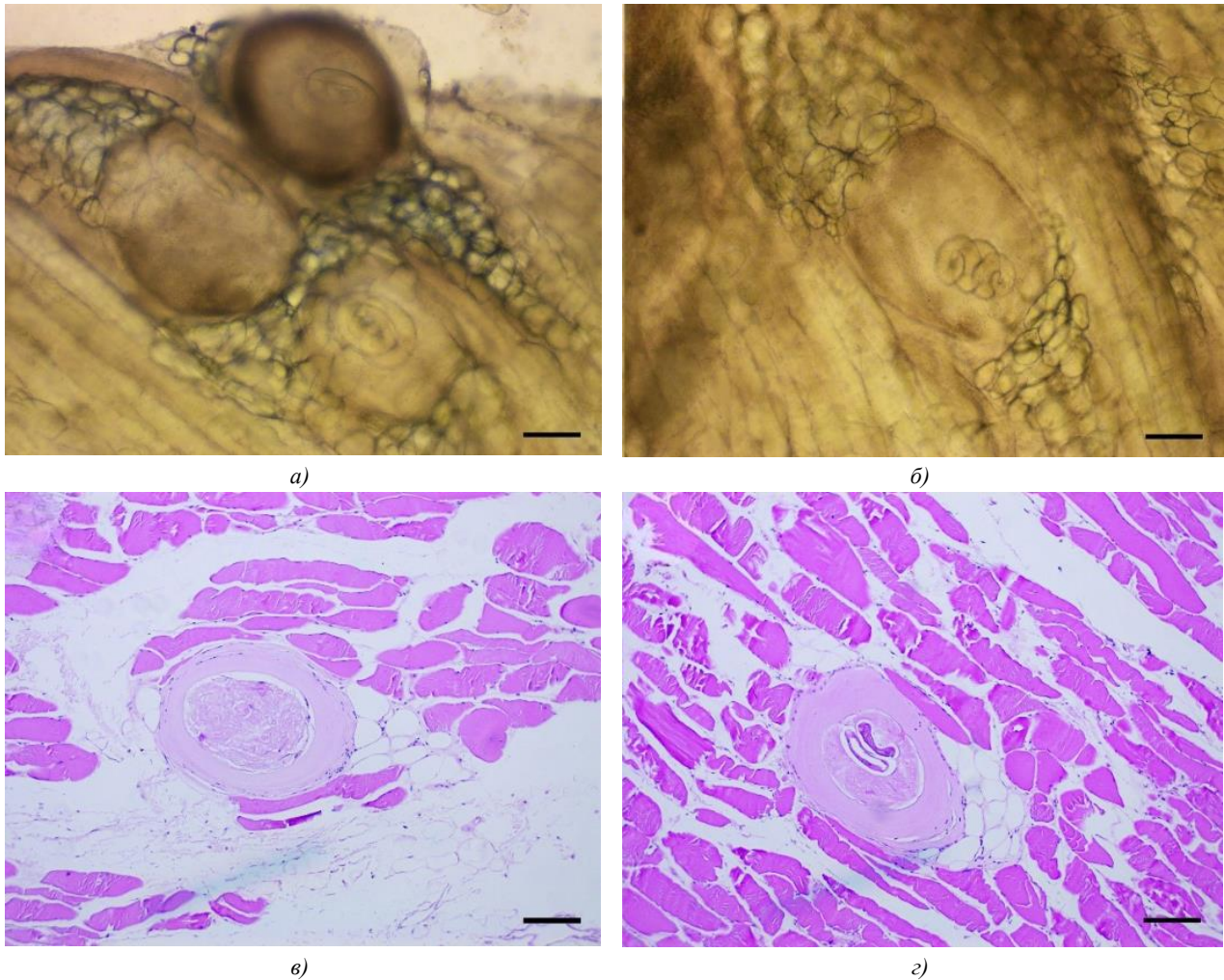


Рис. 1. Капсулы трихинелл с личинками в мышцах барсука: а, б — нативный препарат; в, г — гистологические срезы, окрашенные гематоксилином и эозином. Масштаб: 0,1 мм

**Обсуждение и заключение.** Индексы формы капсул, рассчитанные по результатам морфометрии, более близки к соответствующим показателям *T. nativa*, чем *T. spiralis* [11]. Первый вид регистрировался в Центральной России, но на юге страны и на Кавказе ранее не отмечался [13]. Вероятно, южной границей этого вида является изотерма  $-4^{\circ}\text{C}$  в январе [4], что делает его обнаружение в Ростовской области маловероятным. Однако делать точные выводы относительно видовой принадлежности, обнаруженной нами у барсука трихинеллы, не представляется возможным, так как для достоверной диагностики необходимы молекулярно-генетические исследования [14] или использование метода вестерн-блота [15]. Кроме того, стоит отметить, что большая часть видов трихинелл имеет симпатрическое распространение [3]. Так, на территории Ростовской области потенциально могут быть обнаружены два инкапсулирующих вида (*T. spiralis*, отмечавшийся здесь ранее и распространенный во всем мире,

и *T. britovi*, распространенный от Пиренейского полуострова до Казахстана, Турции и Ирана [4]) и один бескапсульный — *T. pseudospiralis*, регистрировавшийся в Северной Америке, Евразии и Тасмании [16]. Явной привязанности разных видов трихинелл к животным-хозяевам не выявлено [17], однако отмечена различная интенсивность инвазии разными видами трихинелл при экспериментальном заражении [18]. Все это делает видовую идентификацию трихинелл крайне затруднительной.

Таким образом, изучение распространения и видового состава трихинелл по-прежнему остается крайне актуальной задачей, требующей дальнейших исследований как на Юге России, так и по всему миру. Необходимо в обязательном порядке подвергать трихинеллоскопии мясо барсуков для предотвращения возможного заражения людей. Неиспользованные туши и их остатки необходимо утилизировать для недопущения заражения домашних и диких животных.

#### Список литературы/References

1. Dubinsky P, Antolova D, Reiterova K. Human *Trichinella* Infection Outbreaks in Slovakia, 1980–2008. *Acta Parasitologica*. 2016;61:205–211. <https://doi.org/10.1515/ap-2016-0029>

2. Pozio E. World Distribution of *Trichinella* Spp. Infections in Animals and Humans. *Veterinary Parasitology*. 2007;149(1–2):3–21. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.07.002>
3. Zarlenga D, Thompsona P, Pozio E. *Trichinella* Species and Genotypes. *Research in Veterinary Science*. 2020;133:289–296. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.08.012>
4. Pozio E, Zarlenga DS. Recent advances on the taxonomy, systematics and epidemiology of *Trichinella*. *International Journal for Parasitology*. 2005; 35(11–12):1191–1204. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.07.012>
5. Pozio E. *Trichinella* and Trichinellosis in Europe. *Veterinarski Glasnik*. 2019;73(2):65–84. <https://doi.org/10.2298/VETGL190411017P>
6. Твердохлебова Т.И., Думбадзе О.С., Ермакова Л.А., Ковалев Е.В., Ненадская С.А., Гузеева Т.М. и др. Эпидемиологические аспекты трихинеллеза на юге России. В: *Сборник статей научно-практической конференции «Актуальные вопросы изучения особо опасных и природно-очаговых болезней»*. Новосибирск: «Типография Прогресс»; 2019. С. 125–130.  
Tverdokhlebova TI, Dumbadze OS, Ermakova LA, Kovalev EV, Nenadskaya SA, Guzeeva TM, et al. Epidemiological Aspects of Trichinellosis in the South of Russia. In: *Proceedings of the Scientific and Practical Conference “Topical Issues in the Study of Especially Dangerous and Natural Focal Diseases”*. Novosibirsk: “Prodvizhenie” Publ.; 2019. P. 125–130. (In Russ.)
7. Сапунов А.Я. *Совершенствование мер борьбы с трихинеллезом в Северо-Западном регионе Кавказа*. Автореферат диссертации на соискание степени доктора ветеринарных наук. Москва; 2000. 48 с.  
Sapunov AY. *Improving Measures of Combating Trichinellosis in the North-West Region of the Caucasus*. Extended Abstract of Dr.Sci. (Veterinary Sciences) Dissertation. Moscow; 2000. 48 p. (In Russ.)
8. Твердохлебова Т.И., Хуторянина И.В., Черникова М.П. Эпидемиологические аспекты трихинеллеза. *Национальные приоритеты России*. 2021;(3(42)):279–282.  
Tverdokhlebova TI, Khutoryanina IV, Chernikova MP. Epidemiological Aspects of Trichinellosis. *Natsional'nye Prioritety Rossii (National priorities of Russia)*. 2021;(3(42)):279–282. (In Russ.)
9. Городович Н.М., Городович С.Н. *Борьба с трихинеллезом в дикой природе: методические рекомендации*. Благовещенск: Дальневосточный зональный НИВИ; 2009. 7 с.  
Gorodovich NM, Gorodovich SN. *Fighting against Trichinellosis in the Wildlife: Methodological Guidelines*. Blagoveshchensk: Far Eastern Zonal Research Veterinary Institute; 2009. 7 p. (In Russ.)
10. Ромашов Б.В., Василенко В.В., Рогов М.В. *Трихинеллез в Центральном Черноземье (Воронежская область): экология и биология трихинелл, эпизоотология, профилактика и мониторинг трихинеллеза*. Воронеж: Воронежский государственный университет; 2006. 181 с.  
Romashov BV, Vasilenko VV, Rogov MV. *Trichinellosis in the Central Black Earth Region (Voronezh Region): Ecology and Biology of Trichinella, Epizootology, Prevention and Monitoring of Trichinellosis*. Voronezh: Voronezh State University; 2006. 181 p. (In Russ.)
11. Андреянов О.Н. Сравнительная морфология капсул личинок трихинелл от разных видов хозяев. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2014;(2(22)):27–29.  
Andreyanov ON. Comparative Morphology of Capsules of Larvae *Trichinella* from Different Types of Hosts. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2014;(2(22)):27–29. (In Russ.)
12. Трухина Т.И., Соловьева И.А., Бондаренко Г.А., Иванов Д.А. Особенности распределения личинок трихинелл в мышцах барсуков, обитающих на территории Амурской области. *Вестник НГАУ*. 2019;1(50):171–176. <https://doi.org/10.31677/2072-6724-2019-50-1-171-176>  
Trukhina TI, Solovieva IA, Bondarenko GA, Ivanov DA. Peculiarities of *Trichinella* Larvae Distribution in Badgers' Muscles that Inhabit in Amur Region. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2019;1(50):171–176. (In Russ.) <https://doi.org/10.31677/2072-6724-2019-50-1-171-176>
13. Андреянов О.Н., Коняев С.В. Возбудители трихинеллеза в Центральном регионе России. В: *Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы паразитологии и экологии. Чтения, посвященные памяти С.С. Шульмана»*. Тольятти: Издательство «Анна»; 2018. С. 28–31.  
Andreyanov ON, Konyaev SV. Causative Agents of Trichinosis in the Central Region of Russia. In: *Proceedings of the All-Russian Scientific Conference with International Participation “Modern Problems of Parasitology and Ecology. Readings Dedicated to the Memory of S.S. Shulman”*. Tolyatti: “Anna” Publ.; 2018. P. 28–31. (In Russ.)
14. Коняев С.В., Кривопапов А.В., Янагида Т., Накао М., Сако Я., Ито А. и др. Молекулярно-генетические исследования *Trichinella spp.* в России: первые результаты. В: *материалы Международной научной конференции «Современные проблемы общей паразитологии»*. Москва: ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН; 2012. С. 171–174.

Konyaev SV, Krivopalov AV, Yanagida T, Nakao M, Sako Ya, Ito A, et al. The Molecular Genetic Investigation of *Trichinella* Spp. in Russia: First Results. In: *Proceedings of the International Scientific Conference "Modern Problems of General Parasitology"*. Moscow: A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of RAS Publ.; 2012. P. 171–174. (In Russ.)

15. Gómez-Morales MA, Ludovisi A, Amati M, Cherchi S, Tonanzi D, Pozio E. Differentiation of *Trichinella* Species (*Trichinella Spiralis/Trichinella Britovi* versus *Trichinella Pseudospiralis*) Using Western Blot. *Parasites & Vectors*. 2018;11:631. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3244-3>

16. Pozio E, Zarlenga DS. New Pieces of the *Trichinella* Puzzle. *International Journal for Parasitology*. 2013;43(12–13):983–997. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.05.010>

17. Pozio E. Searching for *Trichinella*: Not All Pigs are Created Equal. *Trends in Parasitology*. 2014;30(1):4–11. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.11.001>.

18. Гаркави Б.Л. Трихинеллез, вызываемый *Trichinella pseudospiralis* (морфология и биология возбудителя, эпизоотология и эпидемиология, диагностика, меры борьбы и профилактика). *Российский паразитологический журнал*. 2007;(2):35–116.

Garkavi BL. Trichinellosis Caused by *Trichinella Pseudospiralis* (Morphology and Bio-Logy, Epizootology and Epidemiology, Diagnostics, Control Measures and Preventive Maintenance). *Russian Journal of Parasitology*. 2007;(2):35–116. (In Russ.)

#### Об авторах:

**Александр Павлович Евсюков**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и общей патологии Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [aevsukov@mail.ru](mailto:aevsukov@mail.ru)

**Игорь Олегович Потапенко**, студент кафедры биологии и общей патологии Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [potappenko@gmail.com](mailto:potappenko@gmail.com)

**Алексей Петрович Зеленков**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры биологии и общей патологии Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1), начальник отдела экспериментальных разработок Федерального центра по изучению и воспроизводству охотничьих ресурсов (344018, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Островского, 126), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [zelenkovalex@rambler.ru](mailto:zelenkovalex@rambler.ru)

**Галина Александровна Зеленкова**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры биологии и общей патологии Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1), научный сотрудник отдела экспериментальных разработок Федерального центра по изучению и воспроизводству охотничьих ресурсов (344018, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Островского, 126), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [zelenkovalex@rambler.ru](mailto:zelenkovalex@rambler.ru)

#### Заявленный вклад авторов:

**А.П. Евсюков:** научное руководство, формирование основной концепции, поиск литературы, анализ результатов, формирование выводов.

**И.О. Потапенко:** поиск литературы, подготовка текста, формирование выводов.

**А.П. Зеленков:** цели и задачи исследования, подготовка текста, формирование выводов.

**Г.А. Зеленкова:** цели и задачи исследования, подготовка текста, формирование выводов.

**Конфликт интересов:** автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

*Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.*

#### About the Authors:

**Aleksandr P. Evsyukov**, Cand.Sci (Biology), Associate Professor of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [aevsukov@mail.ru](mailto:aevsukov@mail.ru)

**Igor O. Potapenko**, Student of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [potappenko@gmail.com](mailto:potappenko@gmail.com)

**Alexey P. Zelenkov**, Dr.Sci. (Agriculture), Associate Professor of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), Head of the Experimental Development Department of Federal Center for the Study and Reproduction of Hunting Resources (126, Ostrovskogo Str., Rostov-on-Don, 344018, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [zelenkovalex@rambler.ru](mailto:zelenkovalex@rambler.ru)

**Galina A. Zelenkova**, Dr.Sci. (Agriculture), Professor of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), Researcher at the Experimental Development Department of Federal Center for the Study and Reproduction of Hunting Resources (126, Ostrovskogo Str., Rostov-on-Don, 344018, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [zelenkovalex@rambler.ru](mailto:zelenkovalex@rambler.ru)

***Claimed Contributorship:***

**AP Evsyukov:** scientific supervision, formulating the main concept, literature search, analysis of the results, drawing the conclusions.

**Ю Potapenko:** literature search, preparing the text, drawing the conclusions.

**AP Zelenkov:** aims and objectives of the research, preparing the text, drawing the conclusions.

**GA Zelenkova:** aims and objectives of the research, preparing the text, drawing the conclusions.

***Conflict of Interest Statement:*** the authors declare no conflict of interest.

***All authors have read and approved the final manuscript.***

**Поступила в редакцию / Received** 28.05.2025

**Поступила после рецензирования / Reviewed** 25.06.2025

**Принята к публикации / Accepted** 30.06.2025

# ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

## ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY







УДК 591.4+591.2:598.115.11

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-14-25>

### Анатомо-морфологические характеристики и патологические изменения у бирманского питона (*Python molurus bivittatus*), выращенного в условиях неволи

 Е.Н. Любченко<sup>1</sup>  , М.Ю. Дьяченко<sup>2</sup> , Д.А. Попова<sup>2</sup> 
<sup>1</sup> Приморский государственный аграрно-технологический университет, г. Уссурийск, Российская Федерация<sup>2</sup> Ветеринарная клиника «Химера», г. Уссурийск, Российская Федерация✉ [LyubchenkoL@mail.ru](mailto:LyubchenkoL@mail.ru)

EDN: XPOBMA

#### Аннотация

**Введение.** Бирманский питон (*Python molurus bivittatus*) является третьим по величине видом змей в мире. В дикой природе данная порода змей чаще всего встречается в странах Южной и Юго-Восточной Азии, но в последние годы эти красивые и покорные рептилии стали популярны во всем мире как домашние животные. Содержанием и разведением бирманских питонов занимаются как специалисты в зоопарках и на зоо выставках, так и непрофессиональные любители. Для содержания питона в домашних условиях рекомендуется приобретать особь, рожденную и выращенную в неволе, и создавать ей условия, имитирующие естественную среду обитания. Питоны — выходцы из тропической и субтропической зоны, поэтому в домашних условиях уровень влажности воздуха нужно поддерживать на высокой отметке, а рептилиям, ведущим полуводный образ жизни, обеспечить емкость с водой, в которой они будут иметь возможность купаться, что особенно важно для правильной линьки змей. К сожалению, все чаще эти экзотические животные становятся пациентами ветеринарных клиник или гибнут по разным причинам. Цель исследования — установить анатомо-морфологические характеристики у особей бирманского питона, выращенных в неволе, а также патологические изменения у них при гибели.

**Материалы и методы.** В 2024–2025 гг. в ветеринарную клинику «Химера» (г. Уссурийск, Приморский край) поступили два трупа бирманских питонов (самец и самка) из частной коллекции. Для установления причины гибели проводили цитологическое, бактериологическое и гистологическое исследование. Исследование осуществлялось в условиях секционного зала при искусственном освещении по методу полного патологоанатомического вскрытия с установлением метрических характеристик органов, а также патологических изменений в них.

**Результаты исследования.** Определено, что морфометрические показатели тела и внутренних органов у самца и самки бирманских питонов отличаются по размерам, что связано с возрастом, при этом некоторые органы имеют почти одинаковую длину независимо от пола и возраста. Установлено, что гибель самца произошла по причине острой пневмонии и вероятного утопления на ее фоне. Причиной гибели самки стала острая пневмония, вызванная бактерией *Ochrobactrum anthropi*.

**Обсуждение и заключение.** Полученные в ходе исследования данные, касающиеся анатомо-морфологических характеристик внутренних органов самца и самки бирманского питона, а также патологических изменений в органах при гибели рептилий, могут быть использованы в работе ветеринарных специалистов и герпетологов.

**Ключевые слова:** бирманский питон, анатомо-морфологическая характеристика, патологические изменения, пневмония

**Благодарности.** Авторы приносят благодарность владельцу питонов, предоставившего материал для исследования.

**Для цитирования.** Любченко Е.Н., Дьяченко М.Ю., Попова Д.А. Анатомо-морфологические характеристики и патологические изменения у бирманского питона (*Python molurus bivittatus*), выращенного в условиях неволи. *Ветеринарная патология*. 2025;24(3):14–25. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-14-25>

## Anatomical and Morphological Characteristics of Burmese Python (*Python Molurus Bivittatus*) Raised in Captivity and Pathological Changes in It

Elena N. Lyubchenko<sup>1</sup>  , Maksim Yu. Dyachenko<sup>2</sup> , Darya A. Popova<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Primorsky State Agrarian-Technological University, Ussuriysk, Russian Federation

<sup>2</sup>Veterinary Clinic “Khimera”, Ussuriysk, Russian Federation

 [LyubchenkoL@mail.ru](mailto:LyubchenkoL@mail.ru)

### Abstract

**Introduction.** The Burmese python (*Python Molurus Bivittatus*) is the third largest snake species in the world. In the wildlife, this snake breed is most often found in the countries of South and Southeast Asia, however, in recent years, these beautiful and docile reptiles have become popular around the world as pets. Burmese pythons are kept and bred by specialists in zoos and at zoo exhibitions as well as by amateurs. For keeping at home, it is recommended to purchase a specimen born and raised in captivity and create for it conditions that imitate its natural habitat. Pythons originate from the tropical and subtropical zones, therefore, when kept at home, high air humidity should be maintained, and a water reservoir should be provided for the semi-aquatic reptiles to bathe, which is especially important for correct snake molting. Unfortunately, more and more often these exotic animals become patients of veterinary clinics or die due to various reasons. The aim of the study is to establish the anatomical and morphological characteristics of Burmese python specimens raised in captivity, as well as pathological changes in them upon death.

**Materials and Methods.** In 2024–2025, two corpses of Burmese python (male and female) from a private collection were delivered to “Khimera” veterinary clinic (Ussuriysk, Primorsky Territory). Cytological, bacteriological and histological studies were carried out to establish the cause of death. The studies were carried out in an artificially lighted dissection room using the method of complete autopsy during which the metric parameters of organs, as well as pathological changes in them were established.

**Results.** It was determined that the morphometric parameters of the body and internal organs in male and female Burmese pythons differed in size related to the age, whereas some organs were almost of the same length regardless of sex and age. It was established that death of the male python occurred due to acute pneumonia, which could become a background reason for probable drowning. The female python died from acute pneumonia caused by the bacterium *Ochrobactrum anthropi*.

**Discussion and Conclusion.** The data obtained during the study of the anatomical and morphological characteristics of the internal organs of male and female specimens of Burmese python, and pathological changes in the organs of reptiles upon death, can be used in the practical work of veterinarians and herpetologists.

**Keywords:** Burmese python, anatomical and morphological characteristics, pathological changes, pneumonia

**Acknowledgements.** The authors would like to thank the owner of the pythons who provided the material for the study.

**For Citation.** Lyubchenko EN, Dyachenko MYu, Popova DA. Anatomical and Morphological Characteristics of Burmese Python (*Python Molurus Bivittatus*) Raised in Captivity and Pathological Changes in It. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2025;24(3):14–25. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-14-25>

**Введение.** Бирманский питон (*Python molurus bivittatus* Kuhl, 1820) — крупная и сильная змея с темной чешуей и светло-коричневыми или желтоватыми узорами вдоль тела. Долгое время эти рептилии считались подвидом тигрового питона *P. molurus*, но в 2009 г. были повышены до статуса полноценного вида из-за отличительных морфологических признаков, совместной встречаемости в частях соответствующих ареалов и очевидного отсутствия естественного скрещивания [1]. Систематика тигрового питона была предметом споров на протяжении 200 лет и до сих пор не завершена, однако согласно действующей научной классификации бирманский питон относится к типу *Chordata*, классу *Reptilia*, отряду *Squamata*, семейству *Pythonidae*, роду *Python* и виду *P. bivittatus* [2].

В дикой природе бирманский питон чаще всего встречается в странах Южной и Юго-Восточной Азии, таких как Бирма, Таиланд, Индонезия, Вьетнам. В США эти змеи были завезены в рамках торговли экзотическими домашними животными, однако впоследствии многие из них были выпущены на волю владельцами, которым было сложно ухаживать за рептилиями, и стали инвазивным видом в уникальных экосистемах Южной Флориды [3, 4]. Питон также обитает в Индии и Непале в условиях заповедников [5].

Бирманский питон указан в Приложении II Конвенции о международной торговле CITES как вид, находящийся под угрозой исчезновения. Он внесен как уязвимый в Красный список МСОП (Международный союз охраны природы) с 2012 г., поскольку за первое десятилетие XXI в. популяция бирманских питонов в дикой

природе сократилась как минимум на 30 % из-за таких факторов, как истребление ради кожи, использование в национальной медицине и пищевой промышленности, торговля домашними животными, деградация среды обитания и др. [6].

В дикой природе питоны для проживания выбирают влажные участки леса и болотистые районы, так как очень любят воду и неплохо плавают. Иногда они являются полуводными из-за того, что обитают вблизи источников воды, где питаются млекопитающими, птицами, рептилиями и амфибиями [7]. Это один из крупнейших видов змей в мире, который может достигать длины до 7 м и более, при среднем размере около 3,5 м [8]. Бирманские питоны диморфны, самки обычно длиннее, крупнее и тяжелее самцов. Зафиксированный вес зрелых самок колеблется от 14 до 75 кг, а самцов — от 7 до 15 кг [9].

Бирманские питоны являются яйцекладущими [10]. У самцов более крупные клоакальные отростки (рудиментарные конечности), чем у самок. Они представляют собой две проекции, по одной на каждой стороне анального отверстия, которые являются расширениями задних конечностей [11]. На голове у бирманских питонов есть специализированные термочувствительные структуры, расположенные на верхней и нижней губе: эти ямки позволяют питонам обнаруживать тепловую добычу, особенно в условиях слабого освещения или полной темноты. Бирманские питоны являются эктотермными, полагаясь на внешние источники тепла для регулирования температуры. Как и другие представители класса пресмыкающихся, питоны не отличаются особой активностью и способны находиться в неподвижном состоянии несколько дней подряд. Они начинают двигаться только тогда, когда еды становится мало или когда им угрожает опасность [12].

Как и другие земные змеи, бирманские питоны плотоядны и питаются в основном млекопитающими и птицами. Размер добычи зависит от размера змеи: молодой питон может питаться грызунами, а взрослая особь — скотом, взрослыми оленями и даже аллигаторами [13]. У этих неядовитых змей есть ряды загнутых назад зубов, специально предназначенных для захвата и обездвиживания добычи, пока они оборачивают вокруг нее витки, сокращая мышцы до тех пор, пока жертва не задохнется. Питоны являются оппортунистическими хищниками (то есть будут есть всякий раз, когда предлагается пища), поэтому в неволе часто страдают от ожирения. Во время голодания змея имеет нормальный объем сердца, уменьшенный объем желудка и кислотность, а также уменьшенную кишечную массу. Как только пища попадает в желудок, желудочек сердца змеи увеличивается на 40 % по массе, что способствует пищеварению, его кишечник набирает массу, а живот расширяется и производит больше кислоты [14].

Бирманский питон — самый бесппроблемный питомец для владельца, нетребовательный в уходе и кормлении и добрый по характеру. В России их разводят достаточно много, причем занимаются этим как специалисты в зоопарках и на зоо выставках, так и непрофессиональные любители. Популяция этих экзотических животных в стране растет, и все чаще они становятся пациентами ветеринарных клиник, чем обусловлена актуальность изучения анатомо-морфологического строения и имеющихся патологических изменений в органах и системах рептилий. К сожалению, даже несмотря на имеющиеся случаи гибели питонов вследствие неправильного содержания, кормления, а также болезней, изучение их морфологического статуса, а также исследование причин их гибели проводится крайне редко, что зачастую связано с нежеланием владельцев предоставлять материал для анализа. Учитывая данную ситуацию, целью данной работы мы выбрали установление анатомо-морфологических характеристик у особей бирманского питона, а также патологоанатомических изменений у них при гибели.

**Материалы и методы.** В 2024–2025 гг. в ветеринарную клинику «Химера» (г. Уссурийск, Приморский край) поступило два трупа бирманского питона из частной коллекции с интервалом гибели 90 суток. Исследование погибших особей проводилось в условиях ФГБОУ ВО «Приморский государственный аграрно-технологический университет» (г. Уссурийск) при искусственном освещении по методу патологоанатомического вскрытия с установлением метрических характеристик органов, а также патологических изменений в них.

Исследуемые бирманские питоны были представлены самцом в возрасте двух лет и самкой в возрасте одного года. Со слов владельца, рептилии содержались в одном помещении с неглубоким бассейном, при оптимальной температуре, в рационе были умерщвленные грызуны. 2 ноября 2024 г. самец был обнаружен мертвым на дне бассейна, придавленный сверху самкой. Через 90 суток, 31 января 2025 г., обнаружена мертвой самка.

Морфометрические исследования состояли из авторской методики описания внутренних органов, линейных и весовых параметров [15]. Исследование начинали с внешнего осмотра питонов и снятия основных морфометрических показателей. Используя наименование частей тела, устанавливали локализацию особенностей строения. Пол особей определяли с использованием зонда для определения пола рептилий (*Nomoy Pet*, Китай).

Весовые показатели органов получали с помощью электронных весов Delta KCE-40-21 (*Delta*, Китай), точность до 0,001 г. Линейные промеры органов проводили при помощи мерной ленты (точность до 1 мм) и электронного штангенциркуля Shock Proof (*Union*

Source Co, Китай), точность до 0,1 мм. Извлечение, исследование и описание внутренних органов проводили по методике, описанной в [16]. При проведении патологоанатомического вскрытия для фиксации отдельных изучаемых явлений и предметов, получения наглядного материала производилось фотографирование с помощью фотоаппарата Sony Cyber-shot DSC-W350 (Sony, Япония). Отношение массы внутренних органов к массе тела определяли путем высчитывания среднего показателя массы тела и исследуемых органов, а относительную длину высчитывали путем отношения длины органа к длине тела в процентах.

Гистологическое исследование биопсийного материала из доли легкого проводили в Бюро ветеринарной морфологии СУТОВЕТ (г. Санкт-Петербург) по общепринятым методикам, с окрашиванием гематоксилином и эозином. Там же производилось цитологическое исследование путем окраски материала по методу Папшенгейма. Бактериологическое исследование содержимого дыхательных путей проведено в бактериологической лаборатории ООО МЛ «ТАФИ-Диагностика» (г. Уссурийск).

В связи с недостатком научных сведений по бирманским питонам, при написании статьи использованы различные литературные и интернет-источники.

**Результаты исследования.** Наружный осмотр показал, что по всей длине тела на шкуре у обеих особей имелся идентичный мозаичный рисунок желтовато-коричневого цвета с ассиметричными прямоугольными крупными темно-коричневыми пятнами различной формы. От ноздрей через область глаз проходили темные полосы, переходящие в пятна на шее (рис. 1).

Длина тела самца питона составляла 215,0 см при массе 19,8 кг; длина хвостовой части 105,0 см; обхват в области груди 65,0 см. У самки длина тела составила 177,0 см при массе тела 2,2 кг; длина хвостовой части 21,0 см; обхват в области груди 14,5 см. Упитанность двух особей хорошая: у самца и самки в полостях тела имелись значительные отложения жира в виде гирлянды из отдельных фрагментов светло-розового цвета, умеренно плотной консистенции (рис. 2).



Рис. 1. Труп самца бирманского питона



Рис. 2. Отложения внутреннего жира у самца бирманского питона



Рис. 3. Зубы самца бирманского питона

При изучении внутренних органов нами выявлены некоторые морфометрические особенности. Верхняя челюсть самца фиксировалась на двух костях — нижней и нижнечелюстной. Зубы тонкие, острые, серо-розового цвета, загнуты каудально и направлены в сторону глотки (рис. 3). Длина пищевода самца 63,0 см, слизистая оболочка серо-розового цвета, влажная. Желудок вытянутой формы, длина 19,0 см, слизистая оболочка темно-красного цвета. Длина тонкого кишечника 60,0 см; толстой кишки 37,3 см. В месте перехода тонкой кишки в толстую имелся слепой отросток длиной 3,5 см.

Передняя камера клоаки (coprodeum) самца переходила в среднюю часть, куда открывались мочеточники (urodeum). Длина клоаки 8,3 см. Размер поджелудочной железы составил 5,5 × 3,0 см, она была серо-розового цвета, соединена плотными связками с капсулой селезенки. Печень имела размеры 39,0 × 4,0 см и массу 0,15 кг и располагалась вдоль легкого. В вентральной части печени располагался холедох с ярко выраженными желчными ходами. Длина желчного пузыря 41,1 см, ширина 25,7 см. Почки в форме компактных тел располагались в тазовой области, цвет темно-коричневый: левая почка — длина 15,5 см, масса 0,015 кг; правая почка — длина 18,5 см, масса 0,016 кг (рис. 4).

Сердце состояло из желудочка и двух предсердий, разделенных перегородкой. Оба предсердия открывались в желудочек самостоятельными отверстиями. Желудочек разделен на две половины неполной пере-

городкой, которая предотвращает смешивание артериальной и венозной крови. Длина предсердий 3,1 см, длина желудочков 3,5 см. Ширина сердца у основания 3,4 см, масса сердца 10,0 г, предсердия заполнены кровью (рис. 5).

Трахея длиной 48,0 см, при входе в легкие она разделялась на два бронха. Правое легкое длиной 60,4 см, ограничено переходом в воздушный мешок, который хорошо выражен. Левое легкое короче правого (5,0 см), прикреплено связками к капсуле печени, воздушный мешок менее выражен. Легкие имели ячеистое строение и форму продолговатого мешка, внутренняя поверхность легких имела складчатое ячеистое строение (рис. 6).

У самца гемипенисы расположены в карманах на брюшной стороне хвоста в области клоаки. По краям этих карманов имелись параанальные шпоры — костные образования (ложноножки) в виде небольших когтей светло-желтого цвета, не примыкающие к позвоночнику. Длина левого тестикула 15,5 см, правого — 16,0 см. У самки на брюшной стороне хвоста в области клоаки обнаружили парные гемиклиторы, а также параанальные шпоры в виде небольших когтей, вдвое меньше по длине, чем у самца, светло-желтого цвета. Глубина вхождения зонда для определения пола рептилий, введенный в один из парных гемиклиторов самки, составила 6,0 см (рис. 7).



Рис. 4. Почки самца бирманского питона

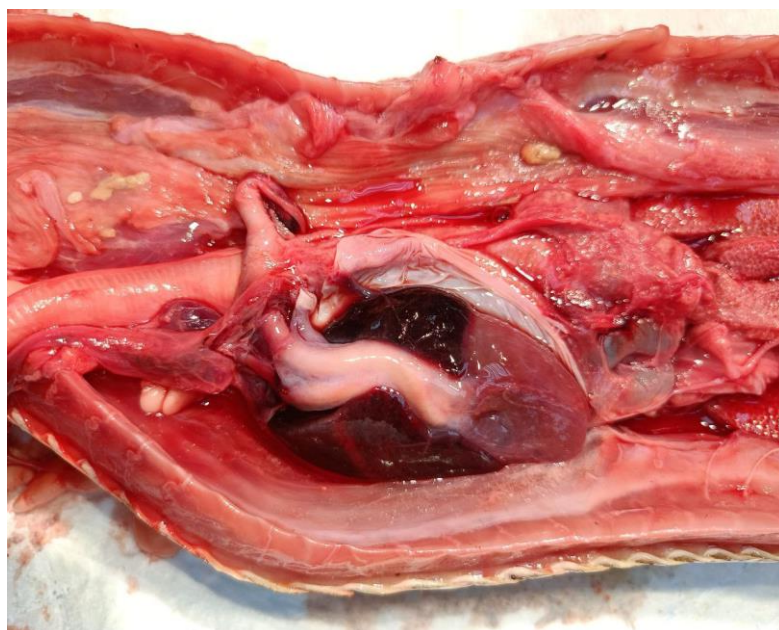


Рис. 5. Сердце самца бирманского питона на разрезе через желудочки



Рис. 6. Трахея с бифуркацией и легкое самца бирманского питона после удаления жидкости

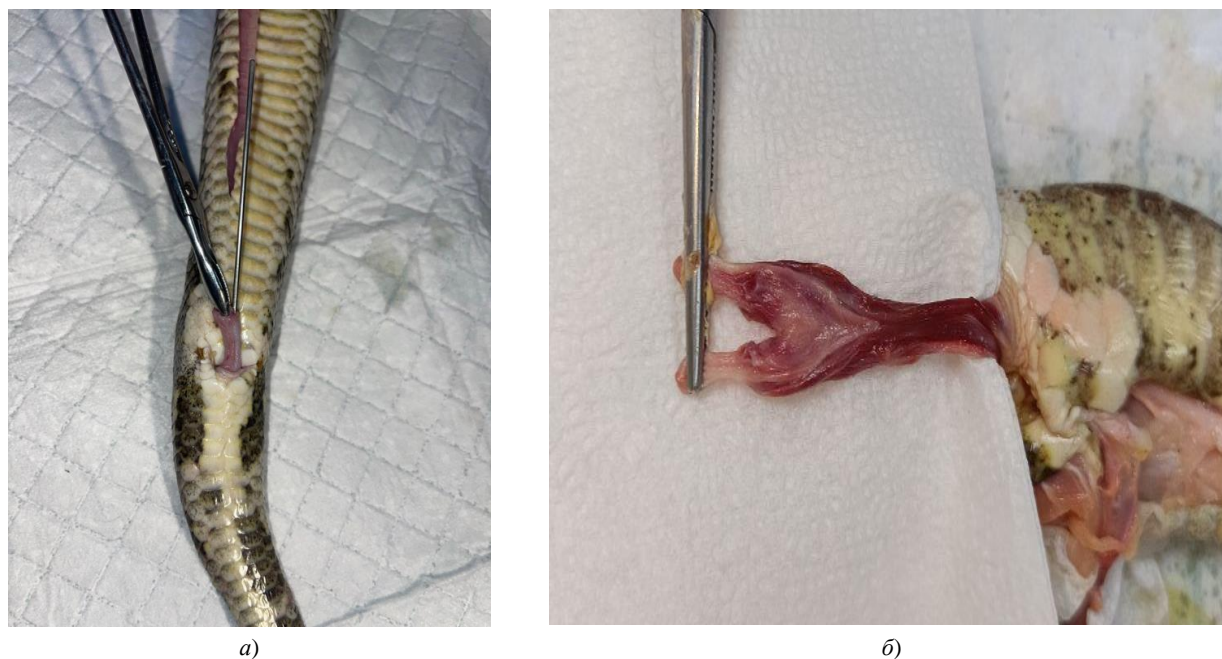


Рис. 7. *а* — гемиклиторы самки, *б* — гемипенисы самца бирманского питона

Абсолютные и относительные морфологические показатели тела и внутренних органов самца и самки бирманского питона представлены в таблице 1. Определяли отношение массы внутренних органов к массе тела, а длину органов — к длине тела, не учитывая длину хвоста.

Анализ абсолютных и относительных морфологических показателей у бирманских питонов показал, что

размеры тела самца значительно превышают размеры самки, несмотря на всего лишь год разницы в возрасте. В то же время длина кишечника, желудка, слепого отростка и клоаки по длине почти одинаковы у обеих особей, несмотря на разницу в длине тела. При этом длина печени, поджелудочной железы, правого и левого легкого, масса и длина печени у самца значительно больше, чем у самки.

Таблица 1

Абсолютные и относительные анатомо-морфологические показатели у бирманских питонов

	Показатели	Единица измерения	Самец	Относительная величина, %	Самка	Относительная величина, %
1	Длина тела	см	215		177	
2	Длина хвостовой части	см	105	48,8	21	11,8
3	Обхват в области груди	см	65	—	14,5	—
4	Масса тела	кг	19,8	—	2,2	—
5	Длина желудка	см	19	8,83	16	9,32
6	Длина тонкого отдела кишечника	см	60	27,9	62	35
7	Длина толстого отдела кишечника	см	37,3	17,3	41	23,2
8	Длина слепого отростка	см	3,5	1,6	3,2	1,8
9	Длина клоаки	см	8,3	3,8	6,1	2,8
10	Длина печени	см	39	18,3	27	15,2
11	Масса печени	кг	0,15	0,75	0,05	2,36
12	Длина поджелудочной железы	см	8	2,5	5,5	4,51
13	Длина левой почки	см	15,5	7,2	10	5,6
14	Длина правой почки	см	18,5	8,6	12,2	6,9
15	Масса левой почки	кг	0,015	0,07	0,006	0,27
16	Масса правой почки	кг	0,016	0,08	0,007	0,31
17	Длина предсердий	см	3,1	1,4	2,2	1,2
18	Длина желудочка сердца	см	3,5	1,6	2,7	1,5
19	Масса сердца	кг	0,01	0,05	0,004	0,18
20	Длина левого легкого	см	5	2,3	3	1,7
21	Длина правого легкого	см	60,4	28	19	10,7
22	Длина левого тестикула	см	15,5	7,2	—	—
23	Длина правого тестикула	см	16	7,4	—	—

Вскрытие показало, что у самки в дыхательных путях находилось значительное количество вязкой мутной слизи с примесью крови, аналогичную слизь обнаружили в просвете трахеи (рис. 8). В передней части правого легкого имелось катарально-гнойное содержимое серо-желтого цвета. Легочная ткань имела темно-красный цвет. В левом легком обнаружили

четыре ограниченных участка с катарально-гнойным содержимым (рис. 9).

У самца в просвете трахеи содержалась пенная жидкость с хлопьевидными включениями желтого цвета. В легочном мешке находилось большое количество густой мутной пенной жидкости с наличием хлопьевидных включений желтого цвета, паренхима легких утолщена, красного цвета (рис. 10).



Рис. 8. Вязкая слизь в дыхательных путях самки бирманского питона

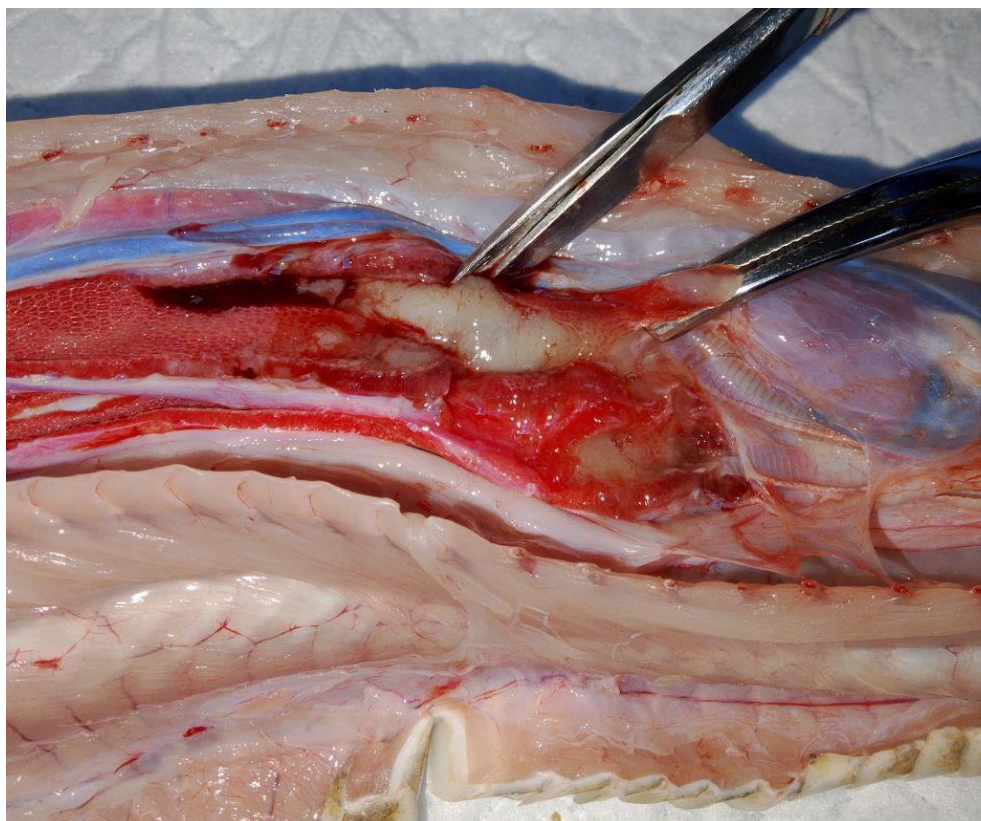


Рис. 9. Катарально-гнойное содержимое правого легкого самки бирманского питона

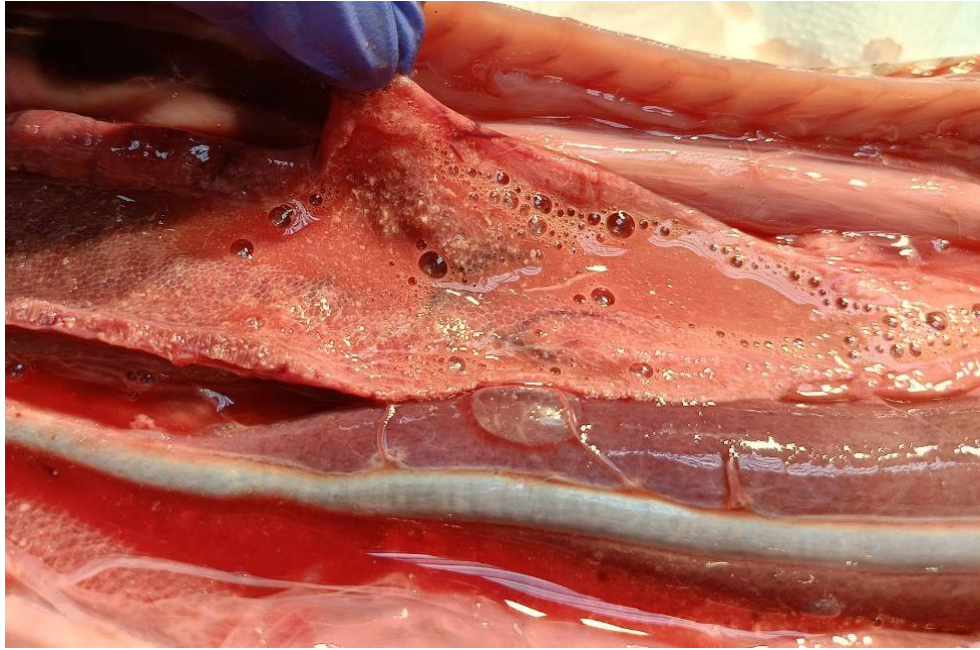


Рис. 10. Жидкость в легочном мешке самца бирманского питона

При бактериологическом исследовании мокроты из дыхательных путей самки была выявлена грамотрицательная бактерия *Ochrobactrum anthropic*. В результате гистологического исследования биопсийного материала легких самки выявлен тяжелый очаговый воспалительный процесс в фавеолах, который представлял собой умеренный гетерофильный воспалительный инфильтрат, связанный со скоплением интерстициальной жидкости в

воздушных пространствах (рис. 11). Отбор проб на бактериологический посев у самца не производился по причине контаминации жидкости из бассейна.

При анализе полученных данных нами установлено, что гибель самца наступила от асфиксии при утоплении на фоне пневмонии. Гибель самки наступила от асфиксии по причине бактериальной пневмонии, вызванной наличием *Ochrobactrum anthropi*.

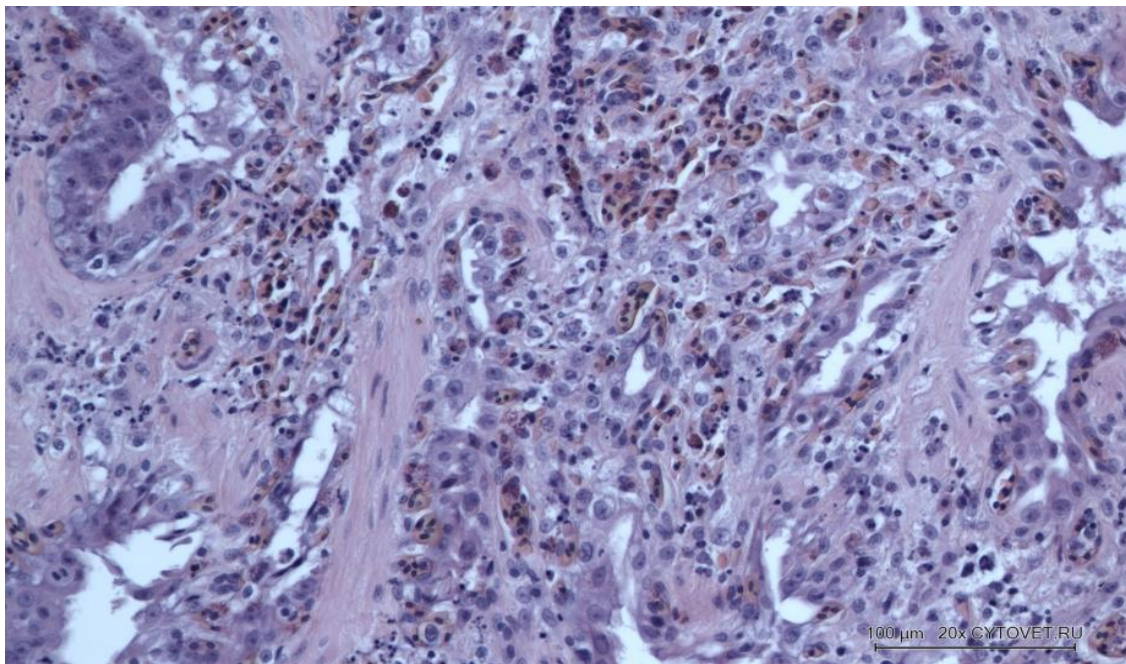


Рис. 11. Очаговый воспалительный процесс в фавеолах легких самки питона (гематоксилин-эозин, × 200)

**Обсуждение и заключение.** При анатомо-морфологическом исследовании внутренних органов двух особей бирманского питона установлено, что относительная масса (индекс) печени у самца составил 0,75 %, сердца — 0,05 %, левой почки — 0,07 %, а правой почки — 0,08 %. При длине тела данной особи в 215,0 см, относительный показатель длины левого лег-

кого легкого — 0,05 %, левой почки — 0,07 %, а правой почки — 0,08 %. При длине тела данной особи в 215,0 см, относительный показатель длины левого лег-

кого составил 20,9 %, а правого — 28,09 %. Метрические показатели внутренних органов самки ниже, чем у самца, что связано с меньшей массой и размерами ее тела. Это хорошо видно по длине печени, поджелудочной железы, правого и левого легкого, массе и длине печени — у самки эти показатели меньше, чем у самца. При этом длина кишечника, желудка, слепого отростка и клоаки по длине почти одинаковы у обоих питонов.

Несмотря на то, что самец был найден в бассейне, придавленный самкой, версия гибели змеи вследствие утопления не может рассматриваться как единственная и достаточная. По разным данным, бирманский питон способен задерживать дыхание от 30 до 90 минут, снижая свой метаболизм до 80 % под водой, что позволяет запасам кислорода сохраняться гораздо дольше. Кроме того, у питонов есть специальные клапаны, герметизирующие трахею при погружении в воду, крупные воздушные капилляры по сравнению с млекопитающими, что позволяет выживать в течение длительных периодов без дыхания, а также высокая концентрация миоглобина, который связывает и хранит кислород, обеспечивая его внутренний запас [17–19]. При данной устойчивости к утоплению гибель самца могла наступить только в том случае, если он находился под водой слишком долго для своих ограниченных пневмонией аэробных возможностей и не мог своевременно выбраться из водоема по причине общей мышечной слабости на фоне заболевания. Следовательно, предполагаемая причина гибели — утопление на фоне пневмонии.

По информации Д.Б. Васильева, пневмонии распространены среди рептилий, поскольку из-за отсутствия диафрагмы кашлевой рефлекс у них отсутствует, эвакуация в трахеи и бронхах в обоих направлениях осуществляется только за счет реснитчатого эпителия. При инфекциях любой этиологии реснички укорачиваются и слипаются, почти полностью теряя свою функцию. В связи с этим инфекционные агенты имеют тенденцию к слиянию и адгезии и развитию очаговой бронхопневмонии. Заболевание может протекать без специфических симптомов, ограничиваясь общим угнетением [20]. По данным А.М. Тиммерман, частота

пневмонии увеличивается, когда змея подвергается стрессовым факторам, таким как: перенаселенность, неподходящая температура и влажность, транспортировка, паразиты и др. [21].

Проведенное исследование позволило нам установить, что гибель обеих особей бирманского питона наступила от асфиксии: у самца при утоплении на фоне пневмонии, у самки — в результате острой пневмонии, которая могла развиваться на фоне снижения иммунитета. В связи с мешковидным продолговатым строением легких, нахождение вязкой жидкости в трахее у самки привело к обструктивному снижению дыхательного объема легких и ограничению возможности аэробного метаболизма.

Патологоанатомические изменения в легких исследуемых питонов характерны для пневмонии, что подтверждено бактериологическим исследованием мокроты из дыхательной системы самки питона. Вероятной причиной пневмонии стала микробная колонизация ротоглотки и дыхательных путей патогеном, которым явилась бактерия *Ochrobactrum anthropi*, а ограниченное помещение могло способствовать передаче инфекции.

*Ochrobactrum anthropi* — это неферментирующая грамотрицательная бактерия, обычно находящаяся в окружающей среде. По опубликованным научным данным, она является распространенной почвенной альфапротеобактерией, которая колонизирует широкий спектр организмов и все чаще признается потенциально проблемным оппортунистическим и нозокомиальным патогеном, который развивается у пациентов с различными типами иммунодефицитов [22]. По информации М.С. Махмуд, последствия патогенности *O. anthropi*, по-видимому, сильно различаются по степени тяжести в зависимости от хозяина. Она вызывает бактериемию, которая может вызвать сепсис и септический шок [23].

Полагаем, что представленные нами результаты окажутся полезными в определении направлений для дальнейших исследований в этой области, что, несомненно, окажет помощь и герпетологам, и ветеринарным специалистам.

### Список литературы / References

1. Bowie D. *Burmese Python: How the Invasive Species Affects Ecosystems*. URL: [\(https://animals.howstuffworks.com/snakes/burmese-python.htm#:~:text=The%20Burmese%20python%20\(Pythons%20molarus,feet%20\(3%20to%206%20meters\)](https://animals.howstuffworks.com/snakes/burmese-python.htm#:~:text=The%20Burmese%20python%20(Pythons%20molarus,feet%20(3%20to%206%20meters))) (accessed: 27.08.2024).
2. Алексеева И. *Тигровый питон*. URL: <https://wildfauna.ru/tigrovyy-piton?ysclid=m31gef9w575995510> (дата обращения: 28.08.2025).
3. Alekseeva I. *Python Molurus*. (In Russ.) URL: <https://wildfauna.ru/tigrovyy-piton?ysclid=m31gef9w575995510> (accessed: 28.08.2025).
3. Lord I, Redinger J, Dixon J, Hart KM, Guzy J, Romagosa CM, et al. Telescoping Prey Selection in Invasive Burmese Pythons Spells Trouble for Endangered Rodents. *Food Webs*. 2023;37: e00307. <https://doi.org/10.1016/j.foodweb.2023.e00307>

4. Pittman SE, Bartoszek IA. Initial Dispersal Behavior and Survival of Non-Native Juvenile Burmese Pythons (*Python Bivittatus*) in South Florida. *BMC Zoology*. 2021;6:33. <https://doi.org/10.1186/s40850-021-00098-2>
5. Safi S, Abhishek, Maurya KK, Ojha G, Mall A, Roy H. Sightings of Burmese Pythons (*Python Bivittatus*) in and around the Valmiki Tiger Reserve, Bihar, India. *Reptiles and Amphibians*. 2020;27(3):519–521. <https://doi.org/10.17161/randa.v27i3.14906>
6. Stuart B, Nguyen TQ, Thy N, Grismer L, Chan-Ard T, Iskandar D, et al. Python Bivittatus. *The IUCN Red List of Threatened Species*. 2012:e.T193451A151341916. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012-1.RLTS.T193451A151341916.en> (accessed: 28.08.2025).
7. Корнеев И.Д. *Тигровый темный питон: описание и советы по содержанию*. URL: <https://zveri.guru/zhivotnye/zmei/tigrovyy-temnyy-piton-opisanie-i-sovety-po-soderzhaniyu.html> (дата обращения: 28.08.2025).
8. Korneev ID. *Burmese Python: Description and Maintenance Tips*. (In Russ.) URL: <https://zveri.guru/zhivotnye/zmei/tigrovyy-temnyy-piton-opisanie-i-sovety-po-soderzhaniyu.html> (accessed: 28.08.2025).
9. Nafus MG, Mazzotti FJ, Reed R.N. Estimating Detection Probability for Burmese Pythons with Few Detections and Zero Recaptures. *Journal of Herpetology*. 2020;54(1):24–30. <https://doi.org/10.1670/18-154> (accessed: 28.08.2025).
10. Саймон Р. *Бирманский питон, змея, факты*. URL: <https://ru2.socmedarch.org/burmese-python-snake-facts-4174983-15008> (дата обращения: 28.08.2025).
11. Simon R. *Burmese Python, Snake, Facts*. (In Russ.) URL: <https://ru2.socmedarch.org/burmese-python-snake-facts-4174983-15008> (accessed: 28.08.2025).
12. *Burmese Python*. URL: <https://www.animalspot.net/burmese-python.html> (accessed: 28.08.2025).
13. *Питоны. Интересные факты*. URL: <https://www.livemaster.ru/topic/2357245-pitony-interesnye-fakty> (дата обращения: 28.08.2025).
14. *Pythons. Interesting Facts*. (In Russ.) URL: <https://www.livemaster.ru/topic/2357245-pitony-interesnye-fakty> (accessed: 28.08.2025).
15. O'Malley B (Ed.). *Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species. Structure and Function of Mammals, Birds, Reptiles and Amphibians*. Elsevier, Saunders Ltd: 2005. 272 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-2782-6.X5001-7>
16. Sarill M. *Burmese Pythons in the Everglades*. URL: <https://iep.berkeley.edu/content/burmese-pythons-everglades> (accessed: 28.08.2025).
17. Helmenstein AM. *Burmese Python Snake Facts*. URL: <https://www.thoughtco.com/burmese-python-snake-facts-4174983> (accessed: 28.08.2025).
18. Любченко Е.Н., Короткова И.П., Иванчук Г.В., Кухаренко Н.С., Жилин Р.А., Кожушко А.А. *Морфометрические исследования диких кошачьих Дальнего Востока: учебное пособие*. Уссурийск: Приморская государственная сельскохозяйственная академия; 2019. 96 с.
19. Lyubchenko EN, Korotkova IP, Ivanchuk GV, Kukharenko NS, Zhilin RA, Kozhushko AA. *Morphometric Studies of Wild Cats of the Far East: A Tutorial*. Ussuriysk: Primorsky State Agricultural Academy; 2019. 96 p. (In Russ.)
20. Кухаренко Н.С., Федорова А.О. *Патологическая анатомия. Органопатология: учебно-методическое пособие к лабораторно-практическим занятиям*. Благовещенск: ДальГАУ; 2015. 38 с.
21. Kukharenko NS, Fedorova AO. *Pathological Anatomy. Organopathology: A Teaching manual for Laboratory and Practical Classes*. Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University; 2015. 38 p. (In Russ.)
22. *Snakes Can Hold Their Breath Longer than You Think*. URL: <https://regardingreptiles.com/snakes-can-hold-their-breath-longer-than-you-think/> (accessed: 28.08.2025).
23. Thornberry M. *How Long Can Snakes Hold Their Breath?* URL: <https://www.berrypatchfarms.net/how-long-can-snakes-hold-their-breath/> (accessed: 28.08.2025).
24. *How Long Can Snakes Hold Their Breath Underwater*. URL: <https://reptilecraze.com/how-long-can-snakes-hold-their-breath-underwater/> (accessed: 28.08.2025).
25. Васильев Д.Б. *Ветеринарная герпетология*. Москва: Аквариум; 2017. 477 с.
26. Vasiliev D.B. *Veterinary Herpetology*. Moscow: Aquarium Publ.; 2017. 477 p. (In Russ.)
27. Timmerman AM, Doolen MD. Common Reptilian Diseases. *Iowa State Veterinarian*. 1994;57(1):14–21. URL: <https://dr.lib.iastate.edu/handle/20.500.12876/47690> (accessed: 28.08.2025).
28. Chain PSG, Lang DM, Comerci DJ, Malfatti SA, Vergez LM, Shin M, et al. Genome of *Ochrobactrum Anthropi* ATCC 49188<sup>T</sup>, a Versatile Opportunistic Pathogen and Symbiont of Several Eukaryotic Hosts. *Journal of Bacteriology*. 2011;193(16). <https://doi.org/10.1128/JB.05335-11>
29. Saeed Mahmood M, Sarwari AR, Khan MA, Sophie Z, Khan E, Sami S. Infective Endocarditis and Septic Embolization with *Ochrobactrum Anthropi*: Case Report and Review of Literature. *Journal of Infection*. 2000;40(3):287–290. <https://doi.org/10.1053/jinf.2000.0644>

**Об авторах:**

**Елена Николаевна Любченко**, кандидат ветеринарных наук, доцент Приморского государственного аграрно-технологического университета (692510, Российская Федерация, Приморский край, г. Уссурийск, ул. Блюхера, д. 44), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [ResearcherID](#), [lyubchenkoL@mail.ru](mailto:lyubchenkoL@mail.ru)

**Максим Юрьевич Дьяченко**, главный ветеринарный врач ветеринарной клиники «Химера» (692503, Российская Федерация, Приморский край, г. Уссурийск, ул. Пролетарская, д. 100), [ORCID](#), [grayeyedking@inbox.ru](mailto:grayeyedking@inbox.ru)

**Дарья Андреевна Попова**, ветеринарный врач ветеринарной клиники «Химера» (692503, Российская Федерация, Приморский край, г. Уссурийск, ул. Пролетарская, д. 100), [ORCID](#), [dashakhbr@gmail.com](mailto:dashakhbr@gmail.com)

**Заявленный вклад авторов:**

**Е.Н. Любченко:** научное руководство, анализ результатов исследований, формирование выводов.

**М.Ю. Дьяченко:** формирование основной концепции, цели исследования, подготовка и доработка текста.

**Д.А. Попова:** сбор и обработка материала, подготовка текста.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.**

**About the Authors:**

**Elena N. Lyubchenko**, Cand.Sci. (Veterinary), Associate Professor, Primorsky State Agrarian-Technological University (44, Blyukhera Str., Ussuriysk, Primorsky Territory, 692510, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [ResearcherID](#), [lyubchenkoL@mail.ru](mailto:lyubchenkoL@mail.ru)

**Maksim Yu. Dyachenko**, Head Veterinarian of the Veterinary Clinic “Khimera” (100, Proletarskaya Str., Ussuriysk, Primorsky Territory, 692503, Russian Federation), [ORCID](#), [grayeyedking@inbox.ru](mailto:grayeyedking@inbox.ru)

**Darya A. Popova**, Veterinarian of the Veterinary Clinic “Khimera” (100, Proletarskaya Str., Ussuriysk, Primorsky Territory, 692503, Russian Federation), [ORCID](#), [dashakhbr@gmail.com](mailto:dashakhbr@gmail.com)

**Claimed Contributorship:**

**EN Lyubchenko:** scientific supervision, analysis of research results, formulating conclusions.

**MYu Dyachenko:** formulating the main concept, research objectives, preparing and refining the text.

**DA Popova:** collecting and processing the material, preparing the text.

**Conflict of Interest Statement:** the authors declare no conflict of interest.

**All authors have read and approved the final version of the manuscript.**

**Поступила в редакцию / Received** 02.06.2025

**Поступила после рецензирования / Reviewed** 27.06.2025

**Принята к публикации / Accepted** 03.07.2025

# ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

## ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 615

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-26-33>


EDN: YTMICF

### Субхроническая токсичность инсектоакарицидного средства на основе D-цифенотрина, пиперонилбутоксиды и пирипроксифена при наружном применении у яичных цыплят

Е.Н. Индюхова

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

✉ [indyuhova@vniigis.ru](mailto:indyuhova@vniigis.ru)

#### Аннотация

**Введение.** Внедрение безопасных и эффективных инсектоакарицидных средств с возможностью их применения в присутствии птиц при эктопаразитах особенно актуально для яичного птицеводства. Разработка и внедрение новых препаратов в ветеринарную практику — сложный процесс, требующий всесторонних доклинических исследований. Цель работы — изучение субхронической токсичности нового противопаразитарного средства на основе D-цифенотрина, пиперонилбутоксиды и пирипроксифена и его влияния на гомеостаз яичных цыплят при наружном применении.

**Материалы и методы.** Исследование субхронической токсичности средства на основе D-цифенотрина, пиперонилбутоксиды и пирипроксифена было проведено в 2024 г. на Подольской опытно-производственной базе ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (г. Москва). 15 цыплят кросса Хайсекс Уайт были разделены на три группы по пять голов в каждой. Перед каждой обработкой 5,0 %-ный препарат разводили водой в соотношении 1:1000. Условно за терапевтическую дозу принимали 10,0 мл на 0,3 кг массы тела птицы. В двух опытных группах птиц обрабатывали мелкокапельным опрыскиванием с помощью помпового опрыскивателя в дозах 33,3 мл/кг и 100,0 мл/кг соответственно. Цыплят из третьей контрольной группы не обрабатывали. Обработки 0,005 %-ной водной эмульсией лекарственного препарата проводили 6 раз с интервалом 48 ч. Контролировали у цыплят в динамике массу, температуру тела, некоторые гематологические и биохимические показатели крови, а также учитывали особенности поведения, приема корма и воды.

**Результаты исследования.** Достоверные изменения массы тела у птиц из двух опытных групп отсутствовали. Статистически значимых изменений не выявлено при анализе температуры тела у цыплят в течение всего эксперимента по сравнению с контролем. У цыплят из второй опытной группы в результате 6-кратного применения увеличенной дозы препарата выявлены дестабилизация показателей системы красной крови и снижение интенсивности белкового обмена, однако указанные изменения носили обратимый характер. Соответственно, дозу 100,0 мл/кг можно считать пороговой, а 33,3 мл/кг — недействующей (безопасной).

**Обсуждение и заключение.** На фоне 6-кратного применения 0,005 %-ной водной эмульсии нового комбинированного инсектоакарицидного средства в дозе 100,0 мл/кг описаны статистически значимые изменения некоторых показателей крови у цыплят, однако они носили обратимый характер. Учитывая трехкратное увеличение терапевтической дозы в эксперименте, у препарата имеется гарантия безопасного наружного применения в широком диапазоне доз. Исходя из этого можно утверждать, что при противопаразитарных обработках использование 0,005 %-ной водной эмульсии комбинированного препарата в дозе 33,3 мл/кг будет безопасно для птиц.

**Ключевые слова:** инсектоакарицидное средство, субхроническая токсичность, D-цифенотрин, пиперонилбутоксид, пирипроксифен, цыплята, доклинические исследования

Для цитирования. Индюхова Е.Н. Субхроническая токсичность инсектоакарицидного средства на основе D-цифенотрина, пиперонилбутоксид и пирипроксифена при наружном применении у яичных цыплят. *Ветеринарная патология*. 2025;24(3):26–33. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-26-33>

Original Empirical Research

## Subchronic Toxicity of D-Cyphenothrin-, Piperonyl Butoxide- and Pyriproxyfen-Based Insecticide-Acaricide upon Its External Use in Laying Chickens

Evgenia N. Indyuhova  

All-Russian Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine (VIEV) Named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences”, Moscow, Russian Federation

 [indyuhova@vniigis.ru](mailto:indyuhova@vniigis.ru)

### Abstract

**Introduction.** Implementation of safe and efficient insecticides-acaricides suitable for using in the presence of poultry infected with ectoparasites is particularly relevant for poultry farming specializing in egg production. The development and implementation of new medicinal products into veterinary practice is a complicated process requiring comprehensive preclinical studies. The objective of this research is to investigate the subchronic toxicity of a new D-cyphenothrin-, piperonyl butoxide-, and pyriproxyfen-based antiparasitic product and the effect of its external use on homeostasis in egg-laying chickens.

**Materials and Methods.** A subchronic toxicity study of the D-cyphenothrin-, piperonyl butoxide- and pyriproxyfen-based medicinal product was conducted in 2024 at Podolsk Experimental and Production Base of the All-Russian Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine (VIEV) of the Russian Academy of Sciences. Fifteen Hisex White chickens were divided into three groups of five birds each. Before each treatment, a 5.0% solution of the product was diluted in water at a ratio of 1:1000. A dose of 10.0 ml per 0.3 kg of body weight was assumed to be a therapeutic dose. Birds in the two experimental groups were treated in dosage of 33.3 ml/kg and 100.0 ml/kg, respectively, using a fine-mist spray pump. Chickens from the third control group were not treated. Treatment with a 0.005% aqueous emulsion of the medicinal product was carried out 6 times with an interval of 48 hours. The dynamics of changes in chicken weight, body temperature, some hematological and biochemical blood parameters was monitored, along with the features of behavior, feed and water intake.

**Results.** No significant changes in body weight in birds from the two experimental groups were recorded. Compared to the control group, no statistically significant changes in body temperature of chickens were revealed throughout the experiment. Six-fold application of the increased dose of the medicinal product resulted in destabilization of red blood cell parameters and decrease of protein metabolism in chickens from the second experimental group; however, these changes were reversible. Accordingly, a dose of 100.0 ml/kg can be assumed a threshold dose of no observed adverse effect level (NOAEL), and 33.3 ml/kg can be assumed a safe one of no observed effect level (NOEL).

**Discussion and Conclusion.** Statistically significant changes in some blood parameters in chickens were observed after six applications of a 0.005% aqueous emulsion of the new combined insecticide-acaricide at a dose of 100.0 ml/kg. However, these changes were reversible. Taking into account the threefold increase of the therapeutic dose in the experiment, the product proved to have a wide range of safe dosages for external use. Therefore, the antiparasitic treatment with the 0.005% aqueous emulsion of the combined product in dosage of 33.3 ml/kg can be ascertained safe for poultry.

**Keywords:** insecticide-acaricide product, subchronic toxicity, D-cyphenothrin, piperonyl butoxide, pyriproxyfen, chickens, preclinical studies

**For Citation.** Indyuhova EN. Subchronic Toxicity of D-Cyphenothrin-, Piperonyl Butoxide- and Pyriproxyfen-Based Insecticide-Acaricide upon Its External Use in Laying Chickens. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2025;24(3):26–33. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-26-33>

**Введение.** Разработка безопасных и эффективных инсектоакарицидных средств для одновременной дезакаризации и дезинсекции животноводческих и птицеводческих объектов является важным направлением современной паразитологии. Например, в промышленном птицеводстве широко распространен красный куриный клещ [1–3]. Эти временные эктопаразиты-гематофаги

заселяют труднодоступные места клеточного оборудования, стыки, трещины и т. д. При паразитологическом обследовании птичников на одном погонном метре обнаруживают около 100–500 клещей, при этом в организме яичных кур отмечают многочисленные негативные изменения центральных обменных процессов, развитие оксидативного стресса, выраженного анемического

синдрома, гипоксии смешанного типа [4], потерю пера, истощение, беспокойство, снижение яйценоскости [5].

В 2024 г. во Всероссийском научно-исследовательском институте фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений (ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва) был разработан лекарственный препарат на основе трех компонентов, малотоксичных для птиц, по мнению ученых [6–8]. Первый компонент — синтетический пиретроид Д-цифенотрин, обладающий активным действием в отношении пухоедов, аргазид, иксодид и красных куриных клещей [9–10]. Вторым компонентом — пиперонилбутоксид из группы синергистов пиретроидов. Третьим веществом является пирипроксифен — супрессор эмбриогенеза эктопаразитов. Данная комбинация трех компонентов относится к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные) при пероральном использовании и к 4 классу опасности (вещества малоопасные) — при наружном применении [11]. Следует отметить, что пиретроиды менее токсичны для птиц, чем для млекопитающих, что обусловлено высокой скоростью биотрансформации пиретроидов в организме птиц по сравнению с млекопитающими [12–14].

Внедрение новых лекарственных препаратов в ветеринарную практику — сложный процесс, требующий многочисленных и всесторонних доклинических исследований, подтверждающих их безопасность и эффективность. Одним из наиболее важных исследований является изучение токсических эффектов при многократном применении препарата на целевых видах животных. Цель данной статьи — изучить субхроническую токсичность инсектоакарицидного средства на основе Д-цифенотрина, пиперонилбутоксида и пирипроксифена и его влияние на организм яичных цыплят при наружном применении.

**Материалы и методы.** Эксперимент проводили в 2024 г. на Подольской опытно-производственной базе ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (г. Москва). 15 цыплят кросса Хайсекс Уайт в возрасте 30 суток были разделены на три группы (две опытные и одна контрольная) по пять голов в каждой. Кормили птицу полнорационным комбикормом для соответствующего возраста. Доступ к воде ограничивали цыплятам из двух опытных групп только во время обработок. Птицу содержали в двухъярусных клетках: контрольную группу разместили на верхнем ярусе, на нижнем отдельно содержали цыплят из первой и второй опытных групп.

Эксперимент проводили согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств, выпущенному в 2012 г. под редакцией А.Н. Миронова<sup>1</sup>. Режим дозирования и кратность введения выбраны с целью выявления возможных

токсических эффектов на организм птиц при использовании 0,005 %-ной водной эмульсии исследуемого препарата в течение длительного срока, а также при его передозировке. Водная эмульсия исследуемого препарата предназначена для противопаразитарных обработок птицеводческого помещения в присутствии кур. При этом препарат распыляют мелкокапельно с использованием различных технических средств, двукратно с интервалом 5 суток и более. Согласно инструкции по применению расход водной эмульсии препарата составляет 50 мл/м<sup>2</sup>, условно за терапевтическую дозу приняли 10,0 мл на 0,3 кг массы тела птицы.

Предварительно перед каждой обработкой 5,0 %-ный препарат разводили водой в соотношении 1:1000 и получали его 0,005 %-ную водную эмульсию. В первой опытной группе птиц обрабатывали мелкокапельным опрыскиванием в дозе 33,3 мл/кг с помощью помпового опрыскивателя. Во второй опытной группе терапевтическую дозу увеличивали втрое (100,0 мл/кг). Перед каждой обработкой проводили индивидуальное взвешивание цыплят, после чего рассчитывали необходимую дозу препарата. Птиц из контрольной группы не обрабатывали.

Обработки водной эмульсией лекарственного препарата проводили 6 раз с интервалом 48 ч. Птиц из трех групп взвешивали, измеряли температуру тела и отбирали у них пробы крови до обработок, на следующий день после 6-й обработки и через 10 суток после 6-й обработки. В пробах крови определяли комплекс гематологических и биохимических показателей согласно общепринятым методикам [15]. Ежедневно вели наблюдения за поведением цыплят, их двигательной активностью, внешним видом, потреблением корма и воды.

Статистическую обработку цифровых данных проводили, используя критерий Стьюдента, с помощью программы Microsoft Excel 2016. Результаты считали статистически значимыми (достоверными), если значение уровня значимости (P) было меньше 0,05. Результаты статистической обработки данных представлены в следующем формате: среднее значение (M) указано вместе с ошибкой среднего ( $\pm m$ ).

**Результаты исследования.** В течение всего эксперимента ни один цыпленок не погиб. Во время обработок особи из первой и второй опытных групп забивались в угол клетки или активно передвигались по ней с чрезмерной вокализацией. Прием корма и воды у цыплят из опытных групп не отличался от контроля.

Динамика изменения массы тела цыплят представлена в таблице 1. Достоверные изменения массы тела у птиц из двух опытных групп отсутствовали. Кроме того, статистически значимых изменений не выявлено при анализе температуры тела у цыплят в течение всего эксперимента по сравнению с контролем (таблица 2).

<sup>1</sup> Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2011. 944 с. URL: [https://rsmu.ru/fileadmin/templates/DOC/Zakon\\_RF/Mironov\\_Rukovodstvo\\_po\\_provedeniju\\_doklinicheskikh\\_issledovaniy\\_lekarstvennykh\\_sredstv.pdf](https://rsmu.ru/fileadmin/templates/DOC/Zakon_RF/Mironov_Rukovodstvo_po_provedeniju_doklinicheskikh_issledovaniy_lekarstvennykh_sredstv.pdf) (дата обращения: 02.09.2025)

Таблица 1

Динамика изменения массы тела цыплят, (n=5), кг

Сроки исследований	Контрольная группа	Первая опытная группа	Вторая опытная группа
До обработки	0,30 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,29 ± 0,01
После 6-й обработки	0,42 ± 0,01	0,41 ± 0,00	0,40 ± 0,01
Через 10 суток после 6-й обработки	0,52 ± 0,01	0,52 ± 0,01	0,51 ± 0,01

Примечание: P>0,05

Таблица 2

Температурный статус цыплят, (n=5), °C

Сроки исследований	Контрольная группа	Первая опытная группа	Вторая опытная группа
До обработки	41,50 ± 0,15	41,70 ± 0,08	41,38 ± 0,24
После 6-й обработки	41,22 ± 0,17	41,58 ± 0,15	41,62 ± 0,17
Через 10 суток после 6-й обработки	41,54 ± 0,14	41,56 ± 0,14	41,44 ± 0,17

Примечание: P>0,05

Статистически значимые изменения выявлены у цыплят из второй опытной группы при анализе некоторых гематологических и биохимических показателей крови по сравнению с контролем. У яичных цыплят оценивали в крови количество эритроцитов, лейкоцитов и концентрацию гемоглобина (таблица 3). Известно, что цианосодержащие пиретроиды, в т. ч. D-цифенотрин, активно влияют на кроветворение [16]. Так, у особей из второй опытной группы после 6-й обработки выявлена тенденция к снижению количества эритроцитов на 7,1 % по сравнению с контролем. При этом через 10 суток после последней обработки указанная тенденция по данному показателю отсутствовала. Также у цыплят из второй опытной группы выявлено статистически значимое снижение концентрации гемоглобина на 10,0 % (P<0,05) по сравнению с контролем. Через 10 суток достоверных

изменений по этому показателю не выявлено. Подобные результаты отражены в работе, исследующей изменения гематологических показателей крови лабораторных животных на фоне применения цифенотринсодержащего препарата [16].

Все пиретроиды, содержащие цианогруппу, нарушают транспортную функцию эритроцитов. Причем компенсаторные механизмы сначала обеспечивают нормальный уровень эритроцитов в крови, посредством стимуляции синтеза эритропоэтина, однако через некоторое время фиксируют угасание гемопоэза [16]. Кроме того, в работе А. Khan и др. отмечено угнетающее действие синтетических пиретроидов на эритропоэтин [17]. Заявленное обуславливает снижение интенсивности некоторых обменных процессов у цыплят на фоне многократного применения комбинированного препарата, что отражено в таблице 4.

Таблица 3

Некоторые гематологические показатели крови цыплят, (n=5)

Показатель, единица измерения	Сроки исследований	Контрольная группа	Первая опытная группа	Вторая опытная группа
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	до обработки	2,64 ± 0,14	2,59 ± 0,06	2,68 ± 0,12
	после 6-й обработки	2,94 ± 0,12	2,82 ± 0,11	2,73 ± 0,08
	через 10 суток после 6-й обработки	2,86 ± 0,08	2,78 ± 0,06	2,92 ± 0,08
Гемоглобин, г/л	до обработки	122,60 ± 2,99	121,60 ± 3,12	125,40 ± 2,73
	после 6-й обработки	126,40 ± 2,93	122,60 ± 2,38	113,80 ± 2,52*
	через 10 суток после 6-й обработки	127,40 ± 2,66	128,60 ± 2,44	122,80 ± 2,75
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	до обработки	7,34 ± 0,29	7,06 ± 0,58	6,88 ± 0,61
	после 6-й обработки	7,70 ± 0,26	7,66 ± 0,42	7,91 ± 0,39
	через 10 суток после 6-й обработки	7,86 ± 0,29	8,30 ± 0,26	7,92 ± 0,29

Примечание: \*P<0,05 по сравнению с контрольной группой

Некоторые биохимические показатели крови цыплят, (n=5)

Показатель, единица измерения	Сроки исследований	Контрольная группа	Первая опытная группа	Вторая опытная группа
Общий белок, г/л	до обработки	37,80 ± 0,92	37,40 ± 1,17	37,00 ± 1,10
	после 6-й обработки	39,40 ± 0,40	38,20 ± 0,58	35,80 ± 1,02*
	через 10 суток после 6-й обработки	39,80 ± 0,37	39,60 ± 0,51	39,00 ± 0,71
Альбумины, г/л	до обработки	18,80 ± 0,49	18,60 ± 0,40	18,20 ± 0,37
	после 6-й обработки	19,00 ± 0,63	18,60 ± 0,24	17,60 ± 0,60
	через 10 суток после 6-й обработки	20,20 ± 0,20	19,40 ± 0,24	18,80 ± 0,49
Глобулины, г/л	до обработки	19,00 ± 0,45	18,80 ± 0,86	18,80 ± 0,86
	после 6-й обработки	20,40 ± 0,51	19,60 ± 0,40	18,20 ± 0,49*
	через 10 суток после 6-й обработки	19,60 ± 0,40	20,20 ± 0,37	20,20 ± 0,37
Аланинаминотрансфераза, Е/л	до обработки	30,40 ± 1,89	32,20 ± 1,85	30,60 ± 2,18
	после 6-й обработки	25,80 ± 2,82	26,00 ± 2,45	21,80 ± 2,87
	через 10 суток после 6-й обработки	14,20 ± 1,07	15,40 ± 0,68	15,00 ± 0,94
Аспаргатаминотрансфераза, Е/л	до обработки	271,80 ± 7,81	273,00 ± 8,70	277,80 ± 9,01
	после 6-й обработки	269,00 ± 3,69	257,00 ± 5,16	245,60 ± 6,68*
	через 10 суток после 6-й обработки	205,20 ± 7,77	210,00 ± 9,02	209,40 ± 9,21
Креатинин, мкмоль/л	до обработки	27,60 ± 0,81	28,20 ± 0,97	27,80 ± 0,58
	после 6-й обработки	29,20 ± 0,80	27,80 ± 0,73	29,00 ± 0,71
	через 10 суток после 6-й обработки	28,80 ± 0,80	29,20 ± 1,16	29,00 ± 1,26
Креатинфосфокиназа, Е/л	до обработки	1979,40 ± 70,89	2001,60 ± 80,69	2013,20 ± 88,46
	после 6-й обработки	2001,40 ± 60,58	1843,60 ± 26,02	1585,00 ± 67,44*
	через 10 суток после 6-й обработки	1947,00 ± 44,47	2051,40 ± 47,98	1895,60 ± 68,71
Холестерол, ммоль/л	до обработки	3,56 ± 0,12	3,60 ± 0,14	3,58 ± 0,14
	после 6-й обработки	3,92 ± 0,10	3,70 ± 0,15	3,88 ± 0,12
	через 10 суток после 6-й обработки	3,98 ± 0,16	3,78 ± 0,11	3,70 ± 0,10
Триглицериды, ммоль/л	до обработки	0,57 ± 0,04	0,53 ± 0,05	0,59 ± 0,04
	после 6-й обработки	0,56 ± 0,04	0,52 ± 0,04	0,55 ± 0,03
	через 10 суток после 6-й обработки	0,66 ± 0,04	0,62 ± 0,04	0,59 ± 0,01
Глюкоза, ммоль/л	до обработки	12,46 ± 0,42	13,42 ± 0,21	13,06 ± 0,39
	после 6-кратной обработки	12,72 ± 0,30	12,58 ± 0,35	12,24 ± 0,27
	через 10 суток после 6-й обработки	13,02 ± 0,26	13,18 ± 0,32	12,34 ± 0,29
Лактатдегидрогеназа, Е/л	до обработки	1351,80 ± 35,03	1322,80 ± 42,71	1286,40 ± 31,20
	после 6-й обработки	1413,20 ± 52,41	1343,40 ± 79,28	1335,00 ± 26,61
	через 10 суток после 6-й обработки	1395,00 ± 33,86	1361,20 ± 30,69	1439,40 ± 48,55
α-Амилаза, Е/л	до обработки	326,80 ± 12,17	357,40 ± 24,02	320,20 ± 10,86
	после 6-й обработки	311,60 ± 11,99	318,00 ± 11,73	301,40 ± 21,85
	через 10 суток после 6-й обработки	337,00 ± 13,67	349,00 ± 17,56	351,80 ± 10,68

Примечание: \*P<0,05 по сравнению с контрольной группой

На фоне 6-кратного применения трехкомпонентного средства у цыплят из второй опытной группы в крови установлено достоверное снижение концентрации общего белка на 9,1 % (P<0,05) и глобулинов на 10,8 % (P<0,05), а также тенденция к снижению уровня альбуминов на 7,4 % по сравнению с контролем. Это свидетельствует о нарушении белково-синтетической функции печени у цыплят из второй опытной группы

и не противоречит другим исследованиям [17, 18]. Однако через 10 суток после применения комбинированного инсектоакарицида выявленные статистически значимые изменения отсутствовали, что свидетельствует о восстановлении у птиц функциональной активности печени в отношении синтеза белка. Подобное отмечено в работе коллег [19]. Известно, что основным органом-мишенью для пиперонилбутоксида является

печень [20]. В исследованиях, проведенных на лабораторных животных, отмечено увеличение массы этого органа, повышение активности некоторых ферментов крови, ассоциированных с патологиями печени [21]. Однако во многих работах подтверждена безопасность пиперонилбутоксидов для птиц, так как даже при использовании его в высоких дозах гибели животных не наблюдается [7, 21].

В результате многократного наружного применения препарата у цыплят из второй опытной группы отмечено снижение интенсивности процессов переаминирования, что выразилось в достоверном снижении активности аспаратаминотрансферазы на 8,7 % ( $P < 0,05$ ), а также установлена тенденция к снижению активности аланинаминотрансферазы на 15,5 % по сравнению с контролем. Современное представление о диагностической значимости этих ферментов изложено в работе А.С. Шидловского и А.И. Салтанова, в которой отмечена тенденция к нарушению реализации взаимосвязей между углеводным, аминокислотным и энергетическим обменами на фоне низкой активности аминотрансфераз [22]. Через 10 суток после окончания обработок достоверных изменений между группами по активности этих ферментов не выявлено.

В течение эксперимента достоверных изменений концентрации креатинина в крови цыплят из двух опытных групп не выявлено по сравнению с контролем. Известно, что одной из причин снижения активности креатинфосфокиназы является дестабилизация аэробных процессов окисления в организме животных. Так, на следующий день после 6-й обработки у цыплят из первой опытной группы установлена тенденция к снижению активности указанного фермента на 7,9 %, а у птиц из второй опытной группы — достоверное снижение его активности на 20,8 % ( $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Однако через 10 суток после последнего использования препарата данные изменения отсутствовали. Возможно, это является следствием нормализации

интенсивности энергетического обмена в организме птиц на фоне стабилизации параметров красной крови.

Анализ некоторых показателей липидного обмена не выявил статистически значимых изменений концентрации триглицеридов и холестерина в крови цыплят из второй опытной группы по отношению к контролю.

Достоверных изменений концентрации глюкозы в крови цыплят не выявлено, при этом ее уровень у всех экспериментальных животных находился в пределах физиологической нормы (11–15 ммоль/л) [23]. Наряду с этим у цыплят из второй опытной группы в крови после 6-й обработки отмечалось две тенденции: снижение концентрации глюкозы на 3,8 % и активности  $\alpha$ -амилазы на 3,3 % по сравнению с контролем. Через 10 суток достоверных изменений по показателям углеводно-энергетического обмена у цыплят не выявлено.

Таким образом, у цыплят из второй опытной группы на фоне 6-кратного наружного применения препарата выявлены дестабилизация показателей системы красной крови и снижение интенсивности белкового обмена, однако указанные изменения носили обратимый характер. Следовательно, дозу 100,0 мл/кг можно считать пороговой, а 33,3 мл/кг — недействующей (безопасной).

**Обсуждение и заключение.** Результаты исследования свидетельствуют о том, что новый комбинированный препарат на основе D-цифенотрина, пиперонилбутоксидов и пирипроксифена безопасен для яичных цыплят в широком диапазоне доз при наружном применении, так как статистически значимые изменения некоторых показателей крови были выявлены только у цыплят из второй опытной группы, которым применяли средство в дозе 100,0 мл/кг, и даже эти изменения носили обратимый характер. Таким образом, есть основания полагать, что использование 0,005 %-ной водной эмульсии комбинированного препарата в дозе 33,3 мл/кг для дезакаризации помещений (двукратно с интервалом от 5 суток и более) в присутствии птиц можно считать безопасным.

#### Список литературы / References

1. Küntüz T, Güneş Y, Sarı AB, Keleş OÜ. Navigating the Resistance: Current Perspectives on Ectoparasite Control in Veterinary Medicine. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*. 2023;7(2):56–67. <https://doi.org/10.30704/http-www-jivs-net.1328872>
2. Pavličević A, Ratajac R, Stojanov I, Pavlovic I. The Control Program of Red Poultry Mite (*Dermanyssus Gallinae*), Today. *Arhiv Veterinarske Medicine (Archives of Veterinary Medicine)*. 2018;11(2):71–88. <https://doi.org/10.46784/e-avm.v11i2.27>
3. Sparagano OAE, Ho J. Parasitic Mite Fauna in Asian Poultry Farming Systems. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020;7:400. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00400>
4. Индюхова Е.Н., Арисов М.В., Азарнова Т.О., Максимов В.И. *Саногенетические основы коррекции физиолого-биохимического статуса у кур при дерманиссиозе*. Москва: Издательский Дом «Наука»; 2024. 242 с. <https://doi.org/10.31016/978-5-6050437-5-1-2024-242>
- Indyuhova EN, Arisov MV, Azarnova TO, Maximov VI. *Sanogenetic Basis for Correction of Physiological and Biochemical Status in Hens with Dermanyssosis*. Moscow: Publishing House Nauka, 2024. 242 p. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/978-5-6050437-5-1-2024-242>

5. Katsavou E, Vlogiannitis S, Karp-Tatham E, Blake DP, Ilias A, Strube C, et al. Identification and Geographical Distribution of Pyrethroid Resistance Mutations in the Poultry Red Mite *Dermanyssus Gallinae*. *Pest Management Science*. 2020;76(1):125–133. <https://doi.org/10.1002/ps.5582>
6. Gajendiran A, Abraham J. An Overview of Pyrethroid Insecticides. *Frontiers in Biology*. 2018;(13):79–90. <https://doi.org/10.1007/s11515-018-1489-z>
7. Țoca C, Nica D, Panchiosu A., Gheorghe A. Determination of Piperonyl Butoxide in Honey Bees by Gas Chromatography Coupled With Mass Spectrometry. *Revista Română de Medicină Veterinară*. 2017;27(3):45–48. URL: <https://agmv.ro/wp-content/uploads/2019/10/DETERMINAREA-PIPERONIL-BUTOXIDULUI.pdf> (accessed: 01.09.2025).
8. Unlu I, Faraji A, Williams GM, Marcombe S, Fonseca DM, Gaugler R. Truck-Mounted Area-Wide Applications of Larvicides and Adulticides for Extended Suppression of Adult *Aedes Albopictus*. *Pest management science*. 2019;75(4):1115–1122. <https://doi.org/10.1002/ps.5227>
9. Арисов М.В., Магомедшапиев Г.М., Курочкина К.Г., Успенский А.В., Малахова Е.И., Новик Т.С. и др. Новые средства для лечебно-профилактических обработок при иксодидозах крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Республики Дагестан. *Российский паразитологический журнал*. 2015;(1):35–40. URL: <https://vniigis.elpub.ru/jour/article/view/130/13> (дата обращения: 01.09.2025)
- Arisov MV, Magomedshapiev GM, Kurochkina KG, Uspensky AV, Malakhova EI., Novik TS, et al. New Remedies for Preventive and Treatment Measures against Ixodidosis in Cattle in Livestock Farms of Dagestan. *Russian Journal of Parasitology*. 2015;(1):35–40. (In Russ.) URL: <https://vniigis.elpub.ru/jour/article/view/130/133> (accessed: 01.09.2025)
10. Индюхова Е.Н., Арисов М.В. Инсектоакарицидная активность лекарственного препарата «5% эмульсия Д-цифенотрина» против аргасовых клещей и пухоедов. *Российский паразитологический журнал*. 2024;18(2):211–218. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-2-211-218>
- Indyuhova EN, Arisov MV. Insectoacaricide Activity of 5% D-Cyphenothrin Emulsion against Argasid Ticks and Biting Lice. *Russian Journal of Parasitology*. 2024;18(2):211–218. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-2-211-218>
11. Арисов М.В., Индюхова Е.Н., Арисова Г.Б., Поселов Д.С., Степанов А.А., Поселова Е.В. Параметры острой пероральной и кожной токсичности лекарственного препарата на основе Д-цифенотрина, пирипроксифена и пиперонилбутоксиде на лабораторных животных. *Российский паразитологический журнал*. 2024;18(4):410–418. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-4-410-418>
- Arisov MV, Indyuhova EN, Arisova GB, Poselov DS, Stepanov AA, Poselova EV. Acute Oral and Dermal Toxicity Parameters of a Drug Based on D-Cyphenothrin, Pyriproxyfen and Piperonyl Butoxide in Laboratory Animals. *Russian Journal of Parasitology*. 2024;18(4):410–418. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-4-410-418>
12. Maund SJ, [Campbell PJ](#), [Giddings JM](#), [Hamer MJ](#), [Henry K](#), [Pilling ED](#), et al. Ecotoxicology of Synthetic Pyrethroids. In book: *Matsuo N, Mori T (Eds.). Pyrethroids. Topics in Current Chemistry, Vol 314*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2011. P. 137–165. [https://doi.org/10.1007/128\\_2011\\_260](https://doi.org/10.1007/128_2011_260)
13. Ahamad A, Kumar J. Pyrethroid Pesticides: An Overview on Classification, Toxicological Assessment and Monitoring. *Journal of Hazardous Materials Advances*. 2023;10:100284. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100284>
14. Ruberti M. One Hundred Years of Pyrethroid Chemistry: A Still-Open Research Effort to Combine Efficacy, Cost-Effectiveness and Environmental Sustainability. *Sustainability*. 2024;16(19):8322. <https://doi.org/10.3390/su16198322>
15. Кондрахин И.П. *Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики*. Москва: Издательство «КолосС»; 2004. 520 с. URL: <https://bioenc.ru/diagnostika-laboratornaya-klinicheskaya/metodyi-veterinarnoy-klinicheskoy-laboratornoy.html> (дата обращения: 01.09.2025)
- Kondrakhin IP. *Methods of Veterinary Clinical Laboratory Diagnostics*. Moscow: Kolos Publishing House; 2004. 520 p. (In Russ.) URL: <https://bioenc.ru/diagnostika-laboratornaya-klinicheskaya/metodyi-veterinarnoy-klinicheskoy-laboratornoy.html> (accessed: 01.09.2025).
16. Srinivas BN, Muniswamy D. Effect Of Cyphenothrin-Induced Splenic Damage and Hematological Alterations in Male Wistar Rats (*Rattus Norvegicus*). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2023;15(11):26–30. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2023v15i11.48970>
17. Khan A, Ahmad L, Khan MZ. Hemato-Biochemical Changes Induced by Pyrethroid Insecticides in Avian, Fish and Mammalian Species. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2012;14(5):834–842. URL: [https://www.researchgate.net/profile/Ahmar-Khan/publication/235997317\\_IJAB-834-842-2012/links/0046351563b0282368000000/IJAB-834-842-2012.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ahmar-Khan/publication/235997317_IJAB-834-842-2012/links/0046351563b0282368000000/IJAB-834-842-2012.pdf) (accessed: 01.09.2025).
18. Verma R, Pathak SK. Haemato-Biochemical Alteration in Chicks (*Gallus Domesticus*) Following Short Term Exposure of Synthetic Pyrethroid Type II Fenvalerate. *Environment Conservation Journal*. 2015;16(1&2):139–142. <https://doi.org/10.36953/ECJ.2015.161221>

19. Addy-Orduna LM, Zaccagnini ME, Canavelli SB, Mineau P. Formulated Beta-Cyfluthrin Shows Wide Divergence In Toxicity among Bird Species. *Journal of Toxicology*. 2011;(1): 803451. <https://doi.org/10.1155/2011/803451>

20. Isshiki K, Tsumura S, Watanabe T. Residual Piperonyl Butoxide in Agricultural Products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1978;(19):518–523. <https://doi.org/10.1007/BF01685835>

21. *Reregistration Eligibility Decision for Piperonyl Butoxide (PBO) List B, Case No. 2525*. United States, Environmental Protection Agency. Prevention. Pesticides and Toxic Substances. (7508C). EPA 738-R-06-005. CiteSeer; 2006. 111 p. URL: [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/reregistration/red\\_PC-067501\\_14-Jun-06.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-067501_14-Jun-06.pdf) (accessed: 01.09.2025).

22. Шидловский А.С., Салтанов А.И. Варианты механизмов изменения активности трансаминаз: клиническая интерпретация. *Вестник интенсивной терапии*. 2015;(1):22–32.

Shidlovsky AS, Saltanov AI. Variants of Mechanisms to Change the Transaminase Activity: Clinical Interpretation. *Annals of Critical Care*. 2015;(1):22–32. (In Russ.)

23. Буйко Н.В., Лизун Р.П., Насонов И.В., Захарик Н.В. Биохимические и гематологические показатели крови кур-несушек кроссов «Хайсекс белый» и «Хайсекс коричневый». *Экология и животный мир*. 2014;(1):31–35. URL: <https://bievm.by/gallery/Экология%20и%20животный%20мир%20№%201%202014.pdf#page=31> (дата обращения: 02.09.2025).

Buyko NV, Lizun RP, Nasonov IV, Zakharik NV. Biochemical and Hematological Parameters in Hysex White and Hysex Brown Laying Hens. *Ecology and Animal World*. 2014;(1):31–35. URL: <https://bievm.by/gallery/Экология%20и%20животный%20мир%20№%201%202014.pdf#page=31> (accessed: 02.09.2025). (In Russ.)

**Об авторе:**

**Евгения Николаевна Индюхова**, кандидат биологических наук, зам. зам. руководителя по инновационной деятельности филиала Федерального научного центра – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук руководителя (117218, Российская Федерация, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [ResearcherID](#), [indyuhova@vniigis.ru](mailto:indyuhova@vniigis.ru)

**Конфликт интересов:** автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.**

**About the Author:**

**Evgenia N. Indyuhova**, Cand.Sci. (Biology), Deputy Director for Innovations, All-Russian Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine (VIEV) Named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences” (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st, Moscow, 117218, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [ResearcherID](#), [indyuhova@vniigis.ru](mailto:indyuhova@vniigis.ru)

**Conflict of Interest Statement:** the author declares no conflict of interest.

**The author has read and approved the final manuscript.**

**Поступила в редакцию / Received** 28.07.2025

**Поступила после рецензирования / Reviewed** 25.08.2025

**Принята к публикации / Accepted** 28.08.2025

# ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

## ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 619:611

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-34-42>

### Морфологические свойства и гистогенез нодальной лимфомы у собак

 Н.В. Митрохина<sup>1</sup>  , Л.Ф. Сотникова<sup>1,2</sup> 
<sup>1</sup> Сеть ветеринарных лабораторий «ВЕТЛАБ», г. Москва, Российская Федерация<sup>2</sup> Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация✉ [nv@mitrokhina.ru](mailto:nv@mitrokhina.ru)

EDN: QXOUMY

#### Аннотация

**Введение.** Одним из часто встречающихся видов онкопатологий являются лимфопролиферативные заболевания, в частности, лимфомы. Заболевания отличаются сложными механизмами развития, множеством этиологических факторов и разнообразием биологии их поведения. Кроме того, общность происхождения лимфоидных клеток делает различные типы лимфом морфологически сходными и затрудняет их диагностику. Золотым стандартом в диагностике онкологической патологии было, есть и будет морфологическое исследование. Однако для адекватной диагностики онкологических заболеваний у животных отсутствуют четкие морфологические критерии, гистологические классификации, характеризующие различные типы опухолей. Вышеизложенное диктует настоятельную необходимость в тщательном изучении различных морфологических типов лимфом и выявлении их дифференциально-диагностических признаков. Цель данного исследования — изучение морфологических признаков и гистогенеза нодальной лимфомы у собак для облегчения диагностики и разработки эффективных протоколов таргетной терапии.

**Материалы и методы.** Объектом исследования, проведенного на базе сети ветеринарных лабораторий «ВЕТЛАБ» (г. Москва) в период с января 2024 г. по январь 2025 г., стали лимфатические узлы собак с признаками поражения нодальной лимфомой. Все пробы (n = 30) прошли гистологическую пробоподготовку по стандартной общепринятой методике. Были получены гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, и выполнена микроскопия. Проведена сравнительная оценка, и сопоставлены следующие морфологические критерии: форма роста опухоли, распространенность опухоли в ткани, строение опухолевых клеток, размер и расположение ядер, структура хроматина, наличие митозов, микроокружение опухолевых клеток.

**Результаты исследования.** Изучая особенности нодальных лимфом собак посредством микроскопии, выявили ряд существенных дифференциально-диагностических признаков, позволяющих разделять лимфомы на морфологические варианты: крупноклеточную и мелкоклеточную лимфому, иммунобластный, центробластный и лимфобластный клеточный тип. К прогностическим признакам отнесли: пролиферативный индекс, диффузную форму роста, клеточное микроокружение, васкуляризацию ткани опухоли.

**Обсуждение и заключение.** В ходе исследования выделили основные морфологические варианты и клеточные типы нодальных лимфом собак. Определили морфологические особенности и дифференциально-диагностические критерии для микроскопического изучения лимфом. Полученные данные могут быть использованы для морфологической верификации лимфом собак в повседневной практике патолога, а также лечь в основу гистологической классификации опухолей лимфоидной ткани у животных.

**Ключевые слова:** лимфома, нодальная лимфома, лимфатический узел, микропрепарат, ткань, лимфобласт, иммунобласт, центроцит, центробласт, собаки

**Благодарности.** Выражаем благодарность отделению патоморфологии сети ветеринарных лабораторий «ВЕТЛАБ» (г. Москва) за бескорыстную помощь в подборке и обработке тканевого материала для исследования.

**Финансирование.** Работа выполнена на средства сети ветеринарных лабораторий «ВЕТЛАБ» (г. Москва).

Для цитирования. Митрохина Н.В., Сотникова Л.Ф. Морфологические свойства и гистогенез нодальной лимфомы у собак. *Ветеринарная патология*. 2025;24(3):34–42. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-34-42>

Original Empirical Research

## Morphological Features and Histogenesis of Canine Nodal Lymphoma

Natalia V. Mitrokhina<sup>1,2</sup>  , Larisa F. Sotnikova<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Network of Veterinary Laboratories “VETLAB”, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH), Moscow, Russian Federation

 [nv@mitrokhina.ru](mailto:nv@mitrokhina.ru)

### Abstract

**Introduction.** One of the most common types of oncopathologies are lymphoproliferative disorders, in particular, lymphomas. The disorders are characterised by the complicated development mechanisms, multiple etiological factors and their diverse biological features. In addition, the common origin of lymphoid cells makes different types of lymphomas morphologically similar and complicates their diagnostics. The morphological study used to be, currently is and will continue to be a gold standard in the oncological pathology diagnostics. However, the lack of clear morphological criteria and histological classifications of the various types of tumours in animals prevents from adequate diagnostics of oncological diseases in them. The above urges to conduct a thorough study of various morphological types of lymphomas to identify their differential diagnostic features. The aim of the research is to study the morphological features and histogenesis of canine nodal lymphoma to facilitate the diagnostics and develop the efficient targeted therapy protocols.

**Materials and Methods.** The objects of the study conducted in the network of veterinary laboratories “VETLAB” (Moscow) in the period from January 2024 to January 2025 were the lymph nodes in dogs with the signs of nodal lymphoma. All samples (n = 30) were prepared according to the standard technique of histological sample preparation. Histological preparations stained with hematoxylin and eosin were obtained, and microscopy was performed. A comparative estimation and contrasting against the following morphological criteria were carried out: tumour growth pattern, spread of tumour in the tissue, tumour cell structure, size and location of nuclei, chromatin structure, presence of mitoses, and tumour microenvironment.

**Results.** By studying the canine nodal lymphoma features by means of microscopy, a number of significant differential diagnostic features were identified enabling to distinguish the following morphological variants of lymphomas: large-cell and small-cell lymphomas, immunoblastic, centroblastic and lymphoblastic lymphomas. Prognostic features included: proliferative index, diffuse growth pattern, cellular microenvironment, and tumour vascularization.

**Discussion and Conclusion.** The study had identified the main morphological variants and cell types of canine nodal lymphomas. Morphological features and differential diagnostic criteria for microscopic study of lymphomas were determined. The obtained data can be used in the every-day practices of a pathologist for morphological verification of canine lymphomas, and also become the basis for histological classification of tumours of lymphoid tissue in animals.

**Keywords:** lymphoma, nodal lymphoma, lymph node, micropreparation, tissue, lymphoblast, immunoblast, centrocyte, centroblast, dogs

**Acknowledgements.** We would like to thank the pathomorphology department of the network of veterinary laboratories “VETLAB” (Moscow) for gratuitous assistance in collecting and processing the tissue material for the research.

**Funding.** The research was carried out at the expense the network of veterinary laboratories “VETLAB” (Moscow).

**For Citation.** Mitrokhina NV, Sotnikova LF. Morphological Features and Histogenesis of Canine Nodal Lymphoma. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2025;24(3):34–42. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-34-42>

**Введение.** Лимфома — это часто встречающееся злокачественное новообразование гематопоэтической и лимфоидной ткани у животных и человека. Опухоль развивается в виде нодальной и экстранодальной формы, не имеет органной принадлежности, что препятствует своевременной диагностике заболевания. В медицине человека существуют классификации, в которых в результате сопоставления клинических, морфологических и иммунологических характеристик выделены многочисленные

варианты Т- и В-клеточных лимфом [1–3]. Все опухоли имеют общую лимфоидную клетку-предшественницу, сходные процессы активации или ингибирования сигнальных путей, мутаций в ключевых генах, характеризуются сходными генетическими поломками и структурными аномалиями. Все это позволяет использовать новые методы молекулярной диагностики в клинических целях для стратификации больных по группам риска, разрабатывать прогностические и диагностические модели,

находить новые таргетные мишени для лекарственного воздействия [4]. Общность происхождения различных типов лимфом затрудняет их морфологическую верификацию, однако алгоритм диагностики лимфомы начинается именно с морфологического изучения клеточного состава или ткани опухоли. В задачи морфологического исследования также входит поиск и изучение прогностических факторов, дифференциальной диагностики индолентных и агрессивных форм лимфомы, поскольку они склонны к гистологической трансформации. Это возникновение агрессивной лимфомы в процессе эволюции клононально связанной индолентной лимфомы [5].

В ветеринарной медицине адекватная диагностика онкологических заболеваний пациентов осложнена ввиду отсутствия четких морфологических критериев, гистологических классификаций, характеризующих различные типы опухолей. Разработка и выявление морфологических критериев, характерных для различных типов лимфом, будет способствовать не только улучшению качества дифференциальной диагностики, но и повышению результативности дальнейшего терапевтического вмешательства. *Цель данной работы* — представить научно-обоснованный подход к морфологической диагностике нодальной лимфомы у собак, основанный на принципе гистогенетического происхождения клеток.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на базе сети ветеринарных лабораторий «ВЕТЛАБ» (г. Москва) в период с января 2024 г. по январь 2025 г. Объект исследования — 30 лимфатических узлов собак, пораженных нодальной лимфомой. Исследовали лимфатические узлы разных локализаций, выявление наиболее частых локализаций лимфомы не являлось целью исследования.

Отбор морфологического материала проводился по следующим критериям: анамнез и клинические признаки (увеличение и ограничение подвижности лимфатических узлов, кахексия, одышка); макроскопические признаки поражения лимфатического узла лимфомой (размер лимфатического узла более 2 см в диаметре, отсутствие рисунка на разрезе лимфоидной ткани, замещение лимфоидной ткани бесструктурными массами, бугристая поверхность лимфатического узла, разрывы капсулы); микроскопическое подтверждение нодальной лимфомы.

В опыт не включали лимфатические узлы с макро- и микроскопическими признаками реактивного воспаления, гиперплазии или метастатического поражения

нелимфоидными опухолями. Макроскопические признаки реактивного воспаления и гиперплазии в лимфатическом узле: размер лимфатического узла до 2 см, рисунок на разрезе сохранен, поверхность лимфатического узла гладкая, капсула целостная. Макроскопические признаки поражения метастатическими опухолями: рисунок на разрезе частично сохранен, на разрезе определяется ограниченный опухолевый очаг, поверхность лимфатического узла может быть бугристой (при множественном поражении метастазами).

Для исследования выполняли продольный разрез лимфатического узла, из центра ткани отбирали пластинку диаметром до 0,5 см и направляли на исследование [6].

Гистологическая проводка выполнялась по общепринятому протоколу: спирт 96 % — 6 ч, ксилол — 3 ч, парафин — 3 ч [7, 8]. Материал заливали в парафиновый блок на автоматической заливочной станции Kedee KD-ВМП (*Kedee*, Россия). Микротомию парафинового блока проводили на полуавтоматическом микротоме Rotary 3004 М (*Kedde*, Россия). Гистологические срезы выполняли толщиной 4 мкм, фиксировали на предметном стекле.

Окрашивали препараты гематоксилином и эозином по общепринятому протоколу: ксилол — 10 мин, спирт 96 % — 15 мин, гематоксин Майера — 20 мин, соляная кислота — 10 сек, дистиллированная вода — 10 мин, раствор эозина — 10 мин [9], на автостейнере Shandon Varistain 24-4 (*Leica*, Германия).

Микроскопию проводили на микроскопе Microscreen («Минимед», Россия) при увеличении ×100, 200 и 400.

Оценивали: тип роста опухоли (диффузный, нодулярный и т. д.); клеточный компонент (мелкие, крупные клетки, полиморфный клеточный состав, анапластическая или бластная/бластоидная морфология клеток, наличие или отсутствие многоядерных клеточных форм, характеристика структуры ядер); наличие реактивных и резидуальных компонентов. При проведении исследования использовалось 5-е издание Классификации ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей (2022 г.).

**Результаты исследования.** Данные, полученные нами в ходе морфологического исследования нодальных лимфом у собак, представлены в таблице 1, из которой следует, что чаще всего выявлялся крупноклеточный вариант лимфомы. Форма роста всех опухолей — диффузная.

Таблица 1

Морфологические варианты нодальных лимфом у собак

Морфологический вариант нодальной лимфомы	Количество случаев	%
мелкоклеточная	6	20
крупноклеточная	24	80

Опухоли из крупных клеток имели крупные ядра, расположенные эксцентрично. Структура хроматина глыбчатая, вследствие чего в ядрах дифференцируются нуклеолы (рис. 1). При увеличении микроскопа  $\times 400$  определялись от 5 до 10 митозов в поле зрения.

Во всех крупноклеточных нодальных лимфомах определялись тонкие фиброзные септы, составляющие строму опухоли. Можно предположить, что они являются остатками межфолликулярных перегородок лимфатического узла (рис. 1 б).

Нодальные лимфомы, состоящие из клеток мелкого размера, имели ряд особенностей: мелкие или средние ядра, расположенные эксцентрично, насыщенный ядерный гетерохроматин, слабая дифференцировка нуклеол. При увеличении микроскопа  $\times 400$  выявляли не более 5 митозов в поле зрения и содержание большого числа апоптических телец (рис. 2).

Результаты исследования по изучению гистогенетического происхождения клеток опухоли свидетельствуют о наличии трехклеточных типов: лимфобластного, иммунобластного и центробластного (таблица 2).

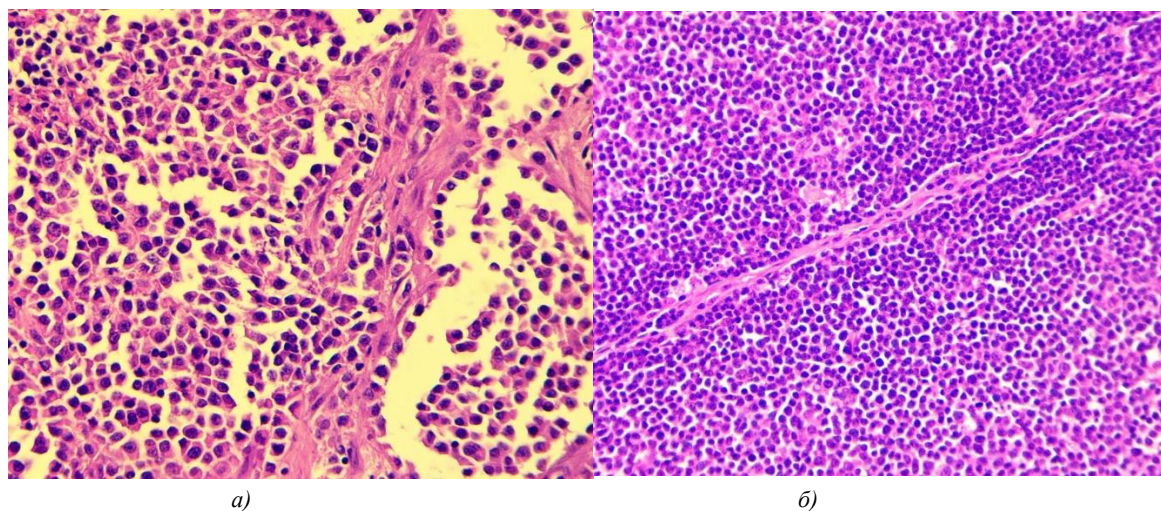


Рис. 1. а — нодальная лимфома из крупных клеток; б — тяж фиброзной ткани в центре опухоли. Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 400$

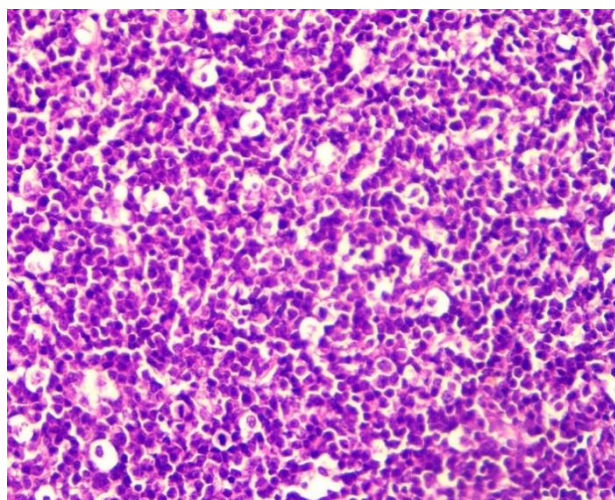


Рис. 2. Мелкоклеточная нодальная лимфома. Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 400$

Таблица 2

Клеточные типы нодальных лимфом у собак

Клеточный тип	Количество случаев	%
Лимфобластный	6	20,0
Иммунобластный	10	33,3
Центробластный	14	46,7

Из таблицы 2 следует, что наиболее часто встречается центробластный клеточный тип нодальной лимфомы. Стоит отметить, что иммунобластный и центробластный типы выявлялись у крупноклеточных вариантов лимфом.

Иммунобластный клеточный тип характеризовался наличием в опухолевом инфильтрате атипичных иммунобластов — крупных клеток с округлыми неровными эксцентричными ядрами, в которых дифференцируется одна крупная нуклеола и глыбчатый петлистый рисунок хроматина. Мембрана нуклеолы неровная, часто к ней прикреплены тонкие нити хроматина. Ободок цитоплазмы у этих клеток довольно широкий и бледный (рис. 3 а).

Центробластный клеточный тип характеризовался наличием в опухолевом инфильтрате атипичных центробластных клеток, которые резко отличались от иммунобластов. Морфологические особенности центробластов: крупные округлые везикулярные ядра, везикулярный хроматин и 2–3 нуклеолы, расположенные вблизи ядерной мембраны, умеренный объем цитоплазмы (рис. 3 б).

Лимфобластный клеточный тип выявлялся у мелкоклеточных опухолей и характеризовался наличием в опухолевом инфильтрате атипичных лимфобластов — клеток мелкого размера, с округлыми ядрами, содержащими компактный гетерохроматин, с недифференцируемой нуклеолой, неровной поверхностью ядерной мембраны и узким ободком цитоплазмы (рис. 4 а).

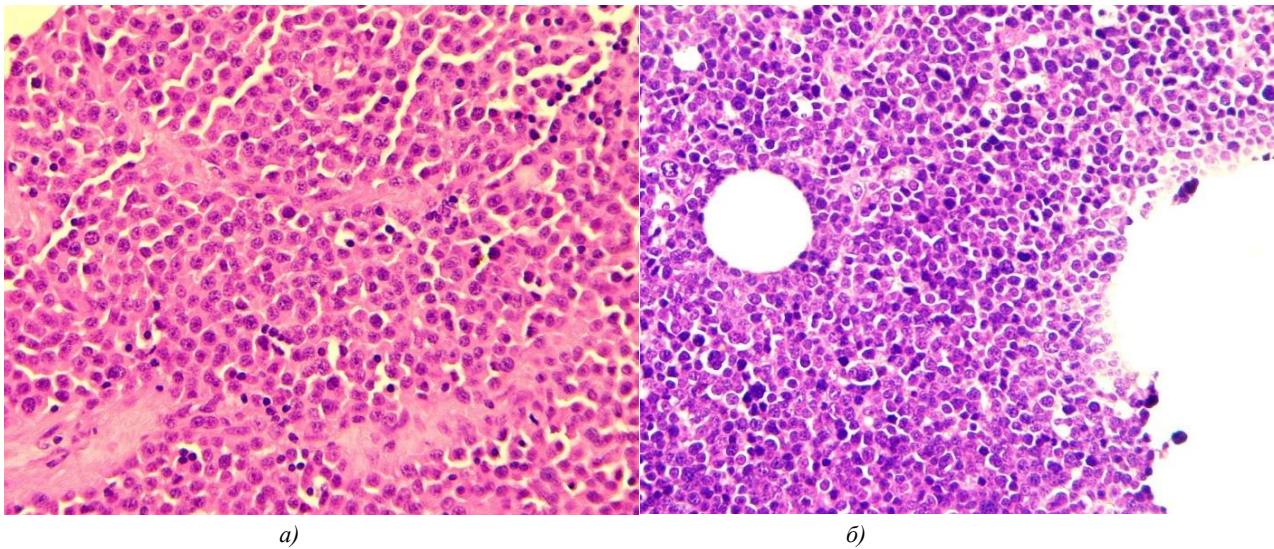


Рис. 3. а — иммунобластный клеточный тип крупноклеточной нодальной лимфомы;

б — центробластный клеточный тип крупноклеточной нодальной лимфомы. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×400

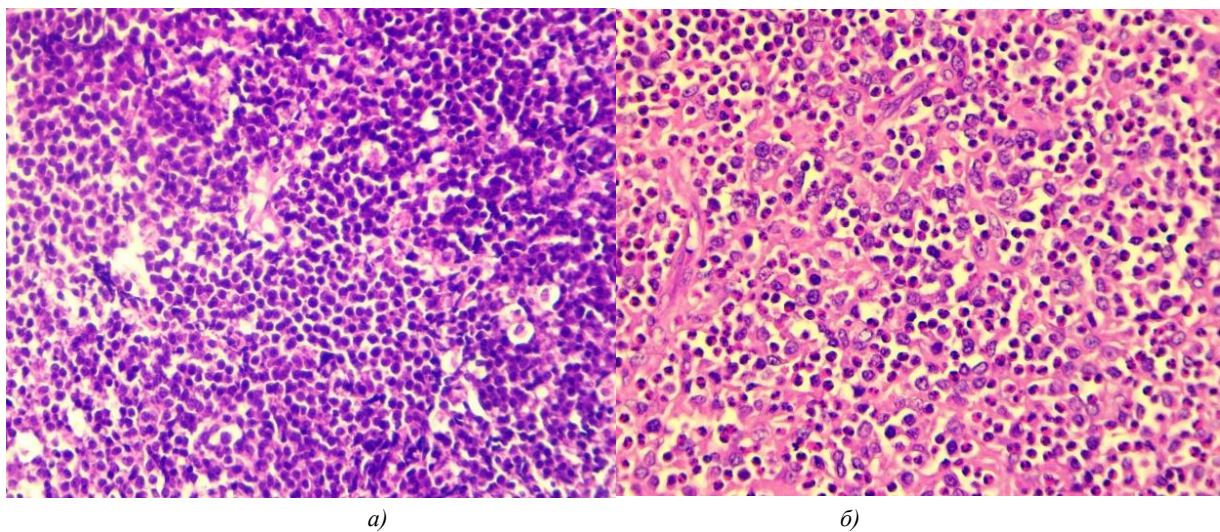


Рис. 4. а — лимфобластный клеточный тип мелкоклеточной нодальной лимфомы; б — иммунобластный клеточный тип крупноклеточной лимфомы, выраженная инфильтрация ткани эозинофилами. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×400

Все опухоли, несмотря на клеточный тип, имели скудную васкуляризацию. В микроокружении присутствовали лимфоциты и плазматические клетки. Мелкоклеточные варианты опухоли были инфильтрированы макрофагами. Один случай содержал большое количество эозинофилов в микроокружении (рис. 4 б).

**Обсуждение и заключение.** В результате исследования патоморфологических особенностей нодальной лимфомы у собак установлено, что все они имеют диффузную форму роста. Выявляются крупноклеточный и мелкоклеточный морфологические варианты, по гистогенетическому принципу опухоли делятся на лимфобластные, центробластные и иммунобластные. Морфологическими дифференциально-диагностическими критериями являются: размер опухолевых клеток, размер ядер, структура хроматина, дифференциация нуклеол, число митозов в поле зрения и наличие апоптических телец.

По имеющимся литературным данным [10, 11], у людей наиболее часто встречается крупноклеточный вариант лимфомы, что совпадает с результатами нашего исследования у собак. Это может быть связано с преобладанием в организме крупных В-клеток, активирующихся во время антигенной стимуляции.

Анализ данных, полученных в процессе изучения клеточных типов опухоли, показывает, что наиболее часто выявлялся центробластный клеточный тип (рис. 5). Можно предположить, что это связано с тем, что в процессе антигенной стимуляции В-клетки иницируют в зародышевом центре фолликула реакцию, при которой они трансформируются в быстро пролиферирующие центробласты, а пролиферирующие клетки чаще подвергаются опухолевой трансформации [12].

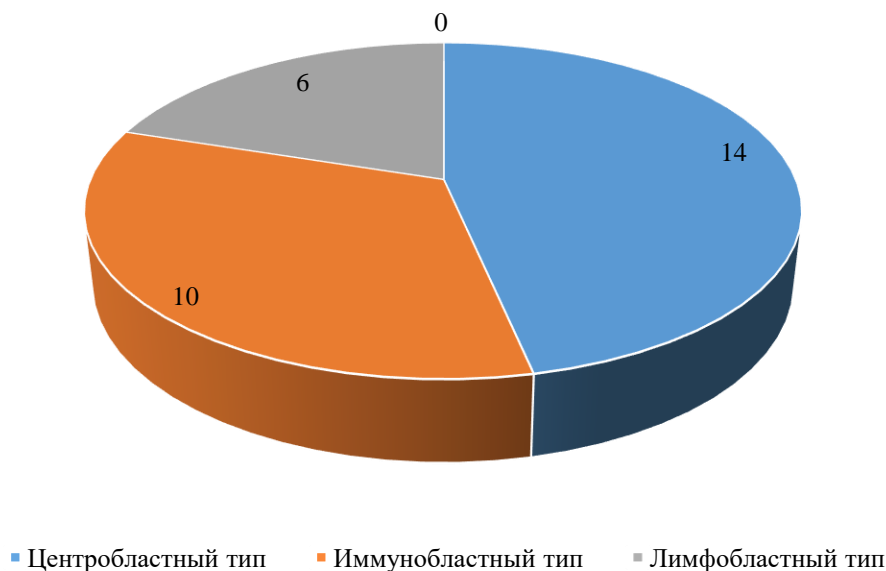


Рис. 5. Результаты исследования клеточных типов нодальных лимфом у собак (n = 30)

В гуманной медицине диагностическими критериями лимфобластной лимфомы являются преобладание атипичных лимфобластов в опухолевом субстрате, наличие макрофагов в микроокружении [13–16]. Полученные нами данные у собак подтверждают информацию из этих научных источников.

Клетки центробластного клеточного типа лимфомы характеризуются крупными округлыми ядрами, содержащими несколько нуклеол вблизи ядерной мембраны, тогда как атипичные иммунобласты, составляющие клеточный субстрат иммунобластной лимфомы, имеют крупные неровные ядра, содержащие одиночную нуклеолу. Ободок цитоплазмы атипичного иммунобласта обильней, чем у центробласта. Схожие дифференциально-диагностические признаки упоминают

Бабичева Л.Г. и Поддубная И.В. при описании нодальной лимфомы у человека [17].

В соответствии с используемым в гуманной медицине в настоящее время 5-м изданием Классификации ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей (2022 г.), диффузная крупноклеточная лимфома имеет 14 клинико-биологических форм [17–20]. Данные формы не изучены и не выделены у животных, поэтому результаты нашего исследования могут положить начало изучению морфологических признаков и дифференциально-диагностических критериев большого количества нозологических форм опухолей лимфоидной ткани в ветеринарной патологии. Наше исследование подтверждает гистогенетическое происхождение опухолевых клеток, что должно быть отражено в гистологической классификации.

## Список литературы / References

1. Ковригина А.М., Пробатова Н.А. *Лимфома Ходжкина и крупноклеточные лимфомы*. Москва: Медицинское информационное агентство; 2007. 216 с.  
Kovrigina AM, Probatova NA. *Hodgkin's Lymphoma and Large Cell Lymphomas*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2007; 216. (In Russ.)
2. Ursu D, Gudumac E, Bernic Ja, Tibirna A, Railean S, LUPAN R., et al. Diagnostic Peculiarities of Lymphomas in the Cervical Region in Children. *Bulletin of the Academy of Sciences of Moldova. Medical Sciences*. 2023;76(2)36-41. <https://doi.org/10.52692/1857-0011.2023.2-76.06>
3. Кудачева Н.А., Беспалова Т.Ю. Клинико-морфологическая диагностика лимфом у собак. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017;(9–2(63)):14–17. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.63.006>  
Kudacheva NA, Bespalova TYu. Clinical and Morphological Diagnosis of the Lymphoma among Dogs. *International Research Journal*. (In Russ.) 2017;(9–2(63)):14–17. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.63.006>
4. Ковригина А.М. Имеет ли самостоятельное значение мутация в гене MYD88 L265P при диффузных В-крупноклеточных лимфомах? *Гематология и трансфузиология*. 2024;69(4):499–501.  
Kovrigin AM. Does the Mutation in the Myd88 L265P Gene in Diffuse Large B-Cell Lymphomas Have Independent Diagnostic Significance? *Gematologiya i transfuziologiya (Russian Journal of Hematology and Transfusiology)*. 2024;69(4):499–501. (In Russ.) <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-4-499-501>
5. Магомедова А.У., Ковригина А.М., Мангасарова Я.К., Кравченко С.К., Никулина Е.Е., Обухова Т.Н. и др. Трансформация лимфомы маргинальной зоны в диффузную В-крупноклеточную лимфому. *Гематология и трансфузиология*. 2024;69(1):112–120. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-112-120>  
Magomedova AU, Kovrigina AM, Mangasarova YaK, Kravchenko SK, Nikulina EE, Obukhova TN, et al. Transformation of Indolent Lymphomas into Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Gematologiya i transfuziologiya (Russian Journal of Hematology and Transfusiology)*. 2024;69(1):112-120. (In Russ.) <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-112-120>
6. Юнусова Ю.Р., Плохова В.А., Шувалова Т.В., Полетаева С.В., Сухачев П.А., Кириченко Н.Д. *Руководство по клинической патологической анатомии. Учебное пособие для студентов высших учебных медицинских заведений*. Самара: Полиграфическое объединение «Стандарт»; 2020. 121 с.  
Yunusova YuR, Plokhova VA, Shuvalova TV, Poletaeva SV, Sukhachev PA, Kirichenko ND. *Handbook on Clinical Pathological Anatomy. A Textbook for Students of Higher Educational Medical Institutions*. Samara: Polygraphic Association "Standard"; 2020. 121 p. (In Russ.)
7. Асауленко З.П., Чухрай С.М., Яковлева А.И., Алымова Е.В., Бучака А.С., Павлинов Г.Б. Влияние укороченной стандартной процедуры проводки на качество гистологических препаратов. В: *Сборник тезисов Второго Российского Конгресса лабораторной гистотехнологии с международным участием «Histotechnology»*. Москва; 2024. С. 31–34.  
Asaulenko ZP, Chukhrai SM, Yakovleva AI, Alyмова EV, Buchaka AS, Pavlinov GB. The Effect of a Shortened Standard Specimen Preparation Procedure on the Quality of Histological Preparations. In: *Collection of Abstracts of the Second Russian Congress of Laboratory Histotechnology with International Participation "Histotechnology"*. Moscow; 2024. P. 31–34. (In Russ.)
8. Пешков М.В., Дыгало И.И. Метод гистологической проводки тканей с использованием изопропанола и минерального масла. *Архив патологии*. 2009;71(3):39–41.  
Peshkov MV, Dygalo II. Histological Tissue Processing Procedure, by Using Isopropanol and Mineral Oil. *Arkhiv patologii (Russian Journal of Archive of Pathology)*. 2009;71(3):39–41. (In Russ.)
9. Безруков А.В., Беланов М.Е., Борисоглебский А.А., Бухаров Г.А., Кравцов П.А., Кузнецов М.В. и др. Новое семейство автоматов окраски микропрепаратов на предметных стёклах. *Поликлиника*. 2023;(4(1)):28–31.  
Bezrukov AV, Belanov ME, Borisoglebsky AA, Bukharov GA, Kravtsov PA, Kuznetsov MV, et al. New Family of Automated Slide Stainers. *Polyclinic*. 2023;(4(1)):28–31. (In Russ.)
10. Каленик О.А. Результаты химиотерапии у пациентов с GCB-подтипом диффузной В-крупноклеточной неходжкинской лимфомы. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2022;20(6):599–602. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-6-599-602>  
Kalenik OA. Results of Chemoimmunotherapy in Patients with GCB-Subtype Diffuse B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2022;20(6):599-602. (In Russ.) <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-6-599-602>
11. Vadasz B, Wolniak K, Sukhanova M, Chen YH, Behdad A. Leukemic Presentation of Anaplastic Large Cell Lymphoma: A Diagnostic Challenge Mimicking T-Cell Prolymphocytic Leukemia. *AJSP Reviews & Reports*. 2022;27(3):119–122. <https://doi.org/10.1097/pcr.0000000000000511>
12. Рукавицын О.А. (ред.). *Гематология: национальное руководство*. 2-е издание, переработанное и дополненное. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2024. 916 с. <https://doi.org/10.33029/9704-8188-2-GEM-2024-1-916>

Rukavitsyn OA (Ed.). *Hematology: National Guidelines*. 2<sup>nd</sup> Edition, Revised and Supplemented. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2024. 916 p. (In Russ.) <https://doi.org/10.33029/9704-8188-2-GEM-2024-1-916>

13. Lipartia MG, Ashurova DT, Daminova MN. Non-Hodgkin's Lymphoma in Children. *Eurasian Bulletin of Pediatrics*. 2022;1(12):39–42. URL: <https://goo.su/zko6XF> (accessed: 01.09.2025)

14. Lipartia MG, Daminova MN. Optimization of Diagnostics of Anaplastic Large Cell Lymphoma in Children. *Journal a New Day in Medicine*. 2022;1(39):119–122. URL: [https://newdayworldmedicine3d.com/upload\\_files/journal\\_article/65b23c7d9dee3.pdf](https://newdayworldmedicine3d.com/upload_files/journal_article/65b23c7d9dee3.pdf) (accessed: 01.09.2025)

15. Krylova YaV, Mikhailova NB, Lepik EE, Lepik KV, Beynarovich AV, Smirnova AG, et al. T-Cell Prolymphocytic Leukemia (T-PLL): A Clinical Case and Review of the Literature. *Cellular Therapy and Transplantation*. 2023;12(4):43–49. <https://doi.org/10.18620/ctt-1866-8836-2023-12-4-43-49>

16. Quintanilla-Martinez L, Sander B, Chan JKC, Xerri L, Ott G, Campo E, et al. Indolent Lymphomas in the Pediatric Population: Follicular Lymphoma, IRF4/MUM1+ Lymphoma, Nodal Marginal Zone Lymphoma And Chronic Lymphocytic Leukemia. *Virchows Archiv*. 2016;468:141–157. <https://doi.org/10.1007/s00428-015-1855-z>

17. Бабичева Л.Г., Поддубная И.В. Гетерогенная диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома: правильный диагноз как залог успешной терапии. *Современная онкология*. 2023;25(2):168–177. <https://doi.org/10.26442/18151434.2023.2.202237>

Babicheva LG, Poddubnaya IV. Heterogeneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Accurate Diagnosis as a Key to Successful Therapy. A review. *Journal of Modern Oncology*. 2023;25(2):168–177. (In Russ.) <https://doi.org/10.26442/18151434.2023.2.202237>

18. Игонин Ю.А., Долгов О.Ю., Хаванева О.В. *Лимфомы: учебное пособие*. Чебоксары: Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова; 2020. 104 с.

Igonin YuA, Dolgov OYu, Khavaneva OV. *Lymphomas: A tutorial*. Cheboksary: Chuvash State University Named after I.N. Ulyanov; 2020. 104 p. (In Russ.)

19. Криволапов Ю.А., Леенман Е.Е. *Морфологическая диагностика лимфом*. Санкт-Петербург: «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА»; 2006. 208 с.

Krivolapov YuA, Leenman EE. *Morphological Diagnostics of Lymphomas*. St. Petersburg: "Kosta" Publ.; 2006. 208 p. (In Russ.)

20. Барам Д.В., Асауленко З.П., Спиридонов И.Н., Криволапов Ю.А. Классификация ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей, 2022 г. (5-е издание): опухоли лимфоидной ткани. *Архив патологии*. 2023;85(4):24–31. <https://doi.org/10.17116/patol20238504124>

Baram DV, Asaulenko ZP, Spiridonov IN, Krivolapov YuA. WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues, 2022 (5<sup>th</sup> Edition): Lymphoid Tumors. *Russian Journal of Archive of Pathology*. 2023;85(4):24–31. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/patol20238504124>

#### Об авторах:

**Наталья Викторовна Митрохина**, кандидат ветеринарных наук, главный врач Сети ветеринарных лабораторий «ВЕТЛАБ» (109202, Российская Федерация, г. Москва, Бронницкий пер., д. 1), [SPIN-код](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [nv@mitrokhina.ru](mailto:nv@mitrokhina.ru)

**Лариса Федоровна Сотникова**, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующая кафедрой болезней мелких домашних, лабораторных и экзотических животных Российского биотехнологического университета (РОСБИОТЕХ) (109029, Российская Федерация, г. Москва, ул. Талалихина, д. 33), [SPIN-код](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [lfsotnikova@mail.ru](mailto:lfsotnikova@mail.ru)

#### Заявленный вклад авторов:

**Н.В. Митрохина:** концепция исследования, написание исходного текста, итоговые выводы, программное обеспечение, верификация данных.

**Л.Ф. Сотникова:** научное руководство, развитие методологии, участие в разработке учебных программ и их реализации, редактирование.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.**

#### About the Authors

**Natalia V. Mitrokhina**, Cand.Sci. (Veterinary), Head Physician of the Network of Veterinary Laboratories "VETLAB" (1, Bronnitsky Lane, Moscow, 109202, Russian Federation), [SPIN-code](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [nv@mitrokhina.ru](mailto:nv@mitrokhina.ru)

**Larisa F. Sotnikova**, Dr.Sci. (Veterinary), Professor, Head of the Department of Diseases of Small Domestic, Laboratory and Exotic Animals, Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH), [SPIN-code](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9210-1000), [lfsotnikova@mail.ru](mailto:lfsotnikova@mail.ru)

***Claimed Contributorship:***

**NV Mitrokhina:** determining the research concept, writing the source text, making final conclusions, provision of software, verification of data.

**LF Sotnikova:** scientific supervision, development of methodology, participation in the development of curricula and their implementation, editing.

***Conflict of Interest Statement:*** the authors declare no conflict of interest.

***All authors have read and approved the final manuscript.***

**Поступила в редакцию / Received** 25.06.2025

**Поступила после рецензирования / Reviewed** 23.07.2025

**Принята к публикации / Accepted** 28.07.2025

# ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

## ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 619:616-001.4

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-43-52>

### Разработка методики получения биоэквивалента соединительной ткани кролика

С.Н. Головин  , Е.Ю. Кириченко , Д.А. Седова 

Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

[labbiobez@yandex.ru](mailto:labbiobez@yandex.ru)

EDN: BYGFJD

#### Аннотация

**Введение.** Клеточная терапия и тканевая инженерия обладают значительным потенциалом применения в ветеринарии, однако использование данных технологий в Российской Федерации в настоящее время ограничено из-за отсутствия стандартизированных протоколов выделения клеток, подбора доноров и создания тканевых эквивалентов. Особую актуальность для клинической ветеринарии имеет разработка методики получения биоэквивалента соединительной ткани, ведь она составляет до половины массы тела и является основой для нормального функционирования кожи, слизистых оболочек и внутренних органов животных. Цель исследования — разработать методику получения тканевого эквивалента соединительной ткани кролика.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на базе ДГТУ в период с 13 ноября 2023 г. по 17 марта 2025 г. Объектом исследования выступили мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки (ММСК) и фибробласты взрослых самцов кролика. Ферментными методами были выделены ММСК из большого сальника и фибробласты из кожи животных. Получены стабильные культуры клеток, исследован их дифференцировочный потенциал при миогенной и липогенной индукции *in vitro*. С применением экструзионной 3D-биопечати созданы эквиваленты соединительной ткани, морфологические свойства которой изучены с помощью световой, конфокальной и электронной микроскопии.

**Результаты исследования.** Индукция наборами факторов обеспечила дифференцировку ММСК в адипо- и миогенном направлении. Адипогенная дифференцировка сопровождалась образованием липидных капель, миогенная — формированием миотрубочек. 3D-биопечать позволила сформировать эквиваленты соединительной ткани с сохранением жизнеспособности клеток, развитием межклеточных контактов и активной секрецией в течение не менее 72 ч.



**Обсуждение и заключение.** Разработан новый подход к получению тканевых эквивалентов соединительной ткани кролика благодаря оптимизации методов выделения и дифференцировки ММСК. Сформированные конструкции продемонстрировали морфофункциональную активность, что подтверждает перспективность их применения в клинической ветеринарии для регенерации соединительной ткани и в экспериментальных исследованиях.

**Ключевые слова:** тканевая инженерия, культура клеток, мезенхимальные стволовые клетки, ММСК, тканевой эквивалент, биоэквивалент, кролик, липобласты, фибробласты, трансмиссионная электронная микроскопия

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ № FZNE-2024-0004.

**Для цитирования.** Головин С.Н., Кириченко Е.Ю., Седова Д.А. Разработка методики получения биоэквивалента соединительной ткани кролика. *Ветеринарная патология*. 2025;24(3):43–52. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-43-52>

## Development of a Methodology for Obtaining Connective Tissue Bioequivalent from Rabbits

Sergey N. Golovin ✉, Evgeniya Yu. Kirichenko , Darya A Sedova 

Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ [labbiobez@yandex.ru](mailto:labbiobez@yandex.ru)

### Abstract

**Introduction.** The potential of cell therapy and tissue engineering technologies in veterinary medicine is quite high. However, the use of these technologies in the Russian Federation is currently limited due to the absence of standardized protocols for cell isolation, donor selection and creation of tissue equivalents. Development of a methodology for obtaining connective tissue bioequivalent is particularly relevant for clinical veterinary medicine, as connective tissue constitutes up to the half of the body weight and ensures the normal functioning of skin, mucous membranes, and internal organs of animals. The aim of this study is to develop a methodology for obtaining connective tissue equivalent from rabbits.

**Materials and Methods.** The study was conducted at Don State Technical University (DSTU) from November 13, 2023 to March 17, 2025. The objects of the study were multipotent mesenchymal stem cells (MMSCs) and fibroblasts from adult male rabbits. Enzymatic methods were used to isolate MMSCs from the greater omentum and fibroblasts from the animal skin. Stable cell lines were obtained, and their differentiation potential was studied *in vitro* during myogenic and lipogenic induction. Connective tissue equivalents were created using 3D extrusion bioprinting, their morphological properties were studied by means of light, confocal, and electron microscopy.

**Results.** Application of the sets of factors during induction ensured the adipogenic and myogenic differentiation of MMSCs. Adipogenic differentiation came along with formation of lipid droplets, while myogenic differentiation — with formation of myotubes. 3D bioprinting enabled creation of connective tissue equivalents with maintained cell viability, developing intercellular contacts, and active secretion for at least 72 hours.

**Discussion and Conclusion.** A new approach to obtaining connective tissue equivalents from rabbits was developed by optimizing MMSCs isolation and differentiation techniques. The resulting constructs demonstrated morphological and functional activity, thus, confirmed their potential for using in clinical veterinary medicine for regeneration of connective tissue and for experimental studies.

**Keywords:** tissue engineering, cell culture, mesenchymal stem cells, MMSCs, tissue equivalent, bioequivalent, rabbit, lipoblasts, fibroblasts, transmission electron microscopy

**Funding.** The research was funded by the grant No. FZNE-2024-0004 of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

**For Citation.** Golovin SN, Kirichenko EYu, Sedova DA. Development of a Methodology for Obtaining Connective Tissue Bioequivalent from Rabbits. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2025;24(3):43–52. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-43-52>

**Введение.** В настоящее время в ветеринарии активно внедряются клеточные технологии, основанные на применении культур клеток и тканевых эквивалентов. Это обусловлено как необходимостью снижения этической нагрузки при экспериментальных исследованиях и совершенствованием экспериментальных моделей *in vitro*, так и развитием регенеративной медицины и внедрением в ветеринарию достижений в области медицины человека [1, 2]. Ориентиром в развитии данного научного направления является реализация биоэтических принципов 3R — Replacement, Reduction, Refinement (англ. Замена, Сокращение, Усовершенствование) [3], — направленных на оптимизацию использования животных в экспериментах, что стимулирует переход к *in vitro* моделям [4]. Клеточные культуры и тканевые эквиваленты, применяемые в качестве экспериментальных

моделей, представляют собой практическую реализацию этих принципов, позволяя не только заменить и сократить число животных в исследованиях, но и повысить точность и воспроизводимость результатов за счет стандартизации [5].

Тканевой эквивалент (биоэквивалент) — это биотехнологический конструкт, представляющий собой аналог ткани или органа. Основными свойствами тканевого эквивалента являются клеточный состав, состав и свойства межклеточного вещества и определенная гистотипическая архитектура [6].

Соединительная ткань составляет около 50 % массы тела животных и выполняет важнейшие функции: опорную, репаративную, метаболическую; клетки в ее составе влияют на дифференцировку эпителиальных и мышечных клеток и ангиогенез. Соединительная ткань участвует в большинстве функций организма в норме,

всегда вовлекается в патологический процесс и участвует в регенерации [7]. Вот почему разработка и внедрение в клиническую практику биоэквивалентов соединительной ткани, для временного или постоянного замещения дефектов и повреждений собственных тканей, высоко востребованы в регенеративной медицине.

С 2025 г. FDA (Food and Drug Administration — Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США) официально рекомендует использование *in vitro* платформ в токсикологических исследованиях и оценке эффективности новых фармакологических средств, отмечая, что клеточные модели, органоиды и тканевые эквиваленты более точно воспроизводят молекулярно-клеточные механизмы патогенеза, уменьшают межэкспериментальную вариабельность и повышают предсказательную способность получаемых данных [8, 9]. Интеграция *in vitro* систем на доклиническом этапе разработки лекарств позволяет снизить число отказов на более поздних стадиях клинических испытаний и оптимизировать риск-менеджмент при тестировании новых терапевтических стратегий [5, 9]. Современные исследования подтверждают, что применение клеточных культур дает воспроизводимые и статистически надежные данные при использовании меньших групп животных по сравнению с традиционными *in vivo* моделями, что сводит к минимуму биоэтические риски и повышает рациональность научных подходов [5]. Параллельно развивается направление модификации клеточных систем для создания высокоточных моделей специфических патологий, включая инфекционные, онкологические и метаболические, что дает возможность детального изучения молекулярных механизмов патогенеза и поиска новых мишеней для потенциальных лекарственных соединений [10, 11].

В ветеринарной регенеративной медицине активно внедряется использование мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) для терапии остеоартрита у лошадей и спинальных травм у собак и кошек [12]. Клиническая эффективность ММСК подтверждена исследованиями на собаках, где внутрисуставное введение аутологичных ММСК улучшало функцию суставов и снижало болевой синдром [13, 14]. Аналогичные результаты получены при лечении лошадей с повреждениями связочного аппарата [14–16]. Также терапия стволовыми клетками показала эффективность в лечении острых и хронических поражений кожи у собак [12].

Совершенствуется технология 3D-биопечати, позволяющая создавать многослойные тканевые конструкции из клеток и биосовместимых полимеров, близкие по архитектуре и механическим свойствам к собственным тканям. Применение бионапечатанных имплантатов при восстановлении костных дефектов у до-

машних животных улучшает остеоинтеграцию и ускоряет заживление [17]. 3D-бионапечатанные тканевые конструкции применяются в скрининге и исследованиях противоопухолевой и лучевой терапии у животных. Фантомы, изготовленные из тканевых эквивалентов, могут быть использованы для измерения и проверки распределения дозы облучения, обеспечивая точность планов лучевой терапии домашних животных и проведение калибровки оборудования [18].

В ветеринарии трехмерные тканевые эквиваленты позволяют создавать персонализированные модели опухолей животных с использованием различных клеток и биомаркеров для подбора таргетной химиотерапии и иммунотерапии при лечении онкологических заболеваний [12]. Также тканевые эквиваленты кожи и соединительной ткани, сконструированные из соответствующих клеточных культур и матрикса, могут быть использованы для лечения ожогов животных и являются перспективным направлением в лечении ран у животных в целом [19, 12]. В мировой практике накоплен значительный опыт в этом отношении [20, 12], однако в Российской Федерации до сих пор отсутствует производство доступных тканевых эквивалентов с клетками для лечения ран как человека, так и животных, поскольку не разработаны стандартизированные протоколы выделения клеток, подбора доноров и получения биоэквивалентов. Таким образом, *цель исследования* — разработать методику создания тканевых эквивалентов соединительной ткани, выполняющей важнейшие функции в организме, из биоматериалов кролика.

**Материалы и методы.** Исследование проведено в период с 13 ноября 2023 г. по 17 марта 2025 г. на факультете «Биоинженерия и ветеринарная медицина» ДГТУ (г. Ростов-на-Дону): все эксперименты с клеточными культурами выполнены в лаборатории клеточных технологий; содержание и работа с лабораторными животными осуществлялась в виварии факультета в соответствии с действующими нормативными актами.

В качестве животных-доноров использовались взрослые самцы кролика *Oryctolagus cuniculus domesticus* породы советская шиншилла (n=3). Для выделения ММСК фрагменты жировой ткани массой 2 г были взяты из большого сальника путем чрескожной биопсии; для выделения фибробластов были взяты биоптаты кожи живота.

Для выделения ММСК фрагменты жировой ткани большого сальника выдерживали 60 мин в 0,2 %-ном растворе коллагеназы в фосфатно-солевом буферном растворе Дульбекко (DPBS) при температуре 37 °C с постоянным перемешиванием. После фильтрации полученной суспензии через клеточное сито осаждали клеточную фракцию с помощью центрифугирования. Осадок вносили в культуральные флаконы со средой DMEM/F12, в которую добавляли 10 % фетальной бы-

чьей сыворотки (ФБС) и 1 нг/мл рекомбинантного основного фактора роста фибробластов человека-2. Выделенную культуру клеток пересеивали в течение пяти пассажей, после чего криоконсервировали.

Фибробласты выделяли из биоптатов кожи: после обработки антисептиком биоптаты асептически иссекали ножницами и переносили на 15 мин в подогретый до температуры 37 °С раствор трипсина для диссоциации клеток. Затем осаждали клетки центрифугированием, вносили в культуральные флаконы со средой DMEM с 10 % ФБС, антибиотиками и антимикотиками и инкубировали при 37 °С с 5 % CO<sub>2</sub>. Используя свойство фибробластов быстро адгезироваться к поверхности флаконов, для сепарации их от других типов клеток через 4 ч флаконы промывали от неприкрепившихся клеток и вносили новую питательную среду, через 2 ч процедуру повторяли, после чего культивировали выделенные клетки до субконфлуэнтного монослоя. Субкультивирование фибробластов осуществляли без добавления антибиотиков и антимикотиков.

ММСК подвергали липогенной и миогенной дифференцировке. Первую использовали для получения липобластов, необходимых для формирования биоэквивалента соединительной ткани. Миогенная дифференцировка служила маркером мультипотентности выделенных стволовых клеток.

В качестве индукторов адипогенной дифференцировки использовалась среда DMEM с 4 мг/л глюкозы, 10 % ФБС, 1 мкмоль дексаметазона, 100 мкмоль индометацина, 500 мкмоль 3-изобутил-1-метилксантина и 10 мкг/мл инсулина [21]. Воздействие индукторов на клетки осуществлялось в течение 10 суток, после чего клетки содержались в стандартной среде DMEM. В качестве отрицательного контроля дифференцировки ММСК культивировали в полной среде DMEM без индукторов. Маркером дифференцировки являлось образование в цитоплазме клеток липидных капель [22].

Для индукции миогенной дифференцировки использовали среду DMEM с 4 мг/л глюкозы, 10 % ФБС, 10 мкмоль 5-азациитидина и 50 мкмоль гидрокортизона. Воздействие индукторов проводилось в течение 15 суток, после чего клетки содержались в стандартной среде DMEM. В качестве отрицательного контроля дифференцировки ММСК культивировали в полной среде DMEM без индукторов. Маркером миогенной дифференцировки считали слияние клеток с образованием миотрубочек [23].

Для подсчета клеток на всех этапах культивирования применялся усовершенствованный алгоритм на основе искусственного интеллекта YOLOv8S-seg, разработанный и описанный нами ранее [24].

Для создания тканевых эквивалентов соединительной ткани был применен метод 3D-биопечати. Для приготовления биочернил порошок альгината натрия

стерилизовали под ультрафиолетовым светом в боксе биологической безопасности в течение 40 мин. Затем компоненты растворяли DPBS без кальция и магния в концентрации 30 мг/мл. 3 мл получившегося гидрогеля переносили в шприц объемом 5 мл и вносили фибробласты и липобласты в соотношении 1:1 в количестве  $2 \times 10^6$  клеток на 1 мл гидрогеля путем смешивания между двумя шприцами с гидрогелем, соединенными адаптером.

Получившиеся биочернила переносили в инжектор 3D-биопринтера, собранного на базе Anet A8 (*Anet*, Китай) и доработанного самостоятельно, как описано ранее в [21], и осуществляли процесс печати по заданной цифровой модели со следующими параметрами: размеры объекта 30×40×3 мм, высота слоя — 0,2 мм, количество периметров — 0, количество сплошных слоев снизу — 0, количество сплошных слоев сверху — 0, заполнение — 8 %, тип заполнения — прямолинейное, угол заполнения — 90°, скорость заполнения — 10 мм/с, диаметр сопла — 0,2 мм, диаметр прутка — 1,2 мм, множитель подачи экструдера — 1,3. Печать проводилась в боксе микробиологической безопасности при комнатной температуре в чашках Петри. После печати получившиеся скаффолды заливали раствором CaCl<sub>2</sub> (100 мг/мл) на 10 мин для стабилизации альгината. После отвердевания скаффолды переносили в чашки Петри со средой DMEM и помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор при 37 °С на 72 ч со сменой среды каждые 12 ч.

После 72 ч инкубации из случайных участков тканевых эквивалентов были отобраны образцы для микроскопического анализа и проведена их соответствующая пробоподготовка. Морфологические свойства полученных тканевых эквивалентов были изучены при помощи светового микроскопа Olympus BX53 (*Olympus*, Япония), конфокального лазерного сканирующего микроскопа Infinity Line (*Abberior Instruments*, Германия) и трансмиссионного электронного микроскопа JEM-1011 (*Jeol*, Япония).

**Результаты исследования.** Используемые протоколы выделения и дифференцировки клеток позволили нам получить стабильные клеточные культуры, которые сохраняли фенотип и динамику роста при субкультивировании в течение 25 пассажей для фибробластов и липобластов и 12 пассажей для миосателлитных клеток (рис. 1).

Внешний вид стабилизированного ионами Ca<sup>2+</sup> конструкта после 3D-биопечати представлен на рис. 2.

На рис. 3 представлена микрофотография полутонких срезов фрагмента конструкта после 72 ч культивирования. В его составе видны равномерно распределенные в матриксе клетки округлой и веретенообразной формы с вытянутыми отростками и выростами цитоплазмы.

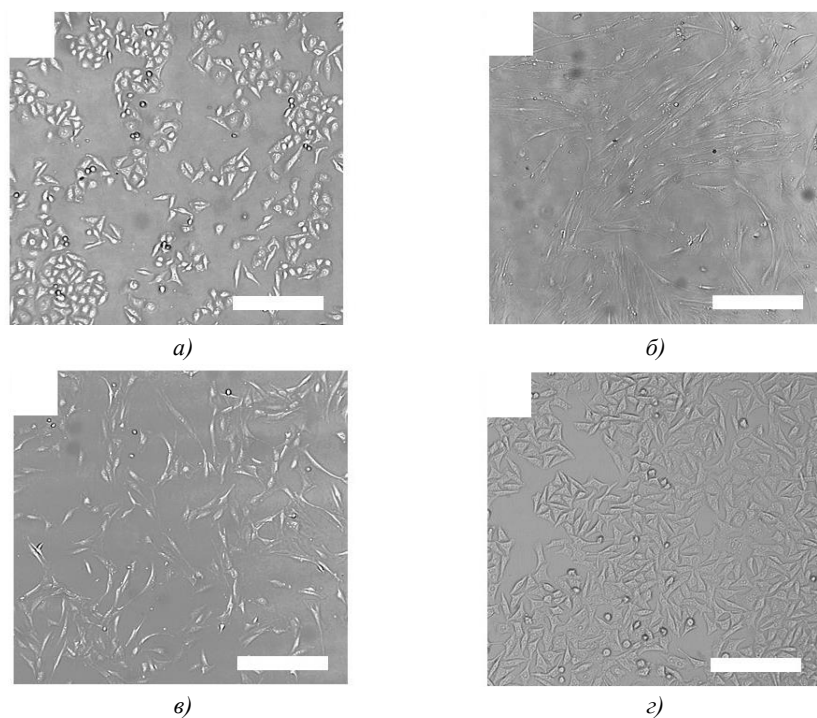


Рис. 1. Светооптическая микроскопия полученных культур клеток, шкала соответствует 200 мкм: *a* — ММСК, *б* — миосателлитные клетки; *в* — фибробласты; *г* — липобласты



Рис. 2. Внешний вид 3D-бионапечатанного конструкта, стабилизированного  $\text{Ca}^{2+}$

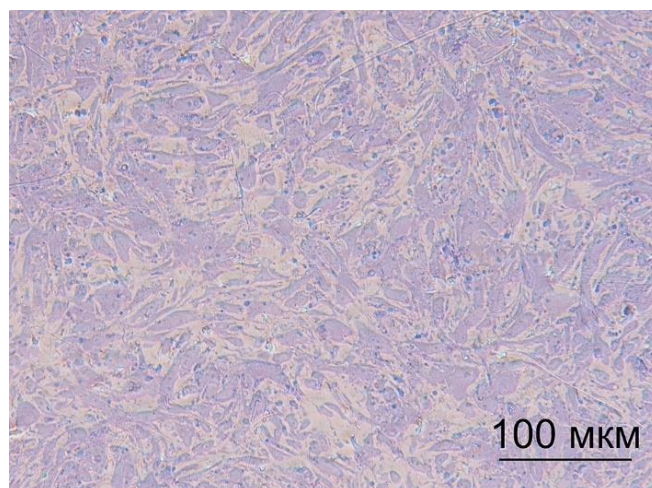


Рис. 3. Полутонкий срез тканевого эквивалента после 72 ч культивирования, окраска метиленовым синим

Трехмерная реконструкция окрашенного SYTOX® Green фрагмента тканевого эквивалента после 72 ч культивирования (рис. 4) демонстрирует целостность ядер клеток и нормальную плотность хроматина.

Данные трансмиссионной электронной микроскопии показывают ультраструктуру клеток в составе тканевого эквивалента и их межклеточное взаимодействие

(рис. 5–6). На электронграммах визуализируются клетки двух типов с ультраструктурными признаками фибробластов и липобластов. Оба типа клеток имеют веретенообразную или треугольную, с разветвленными тонкими отростками, направленными преимущественно вдоль тел клеток, форму. Помимо отростков клетки имеют выросты цитоплазмы неправильной формы.

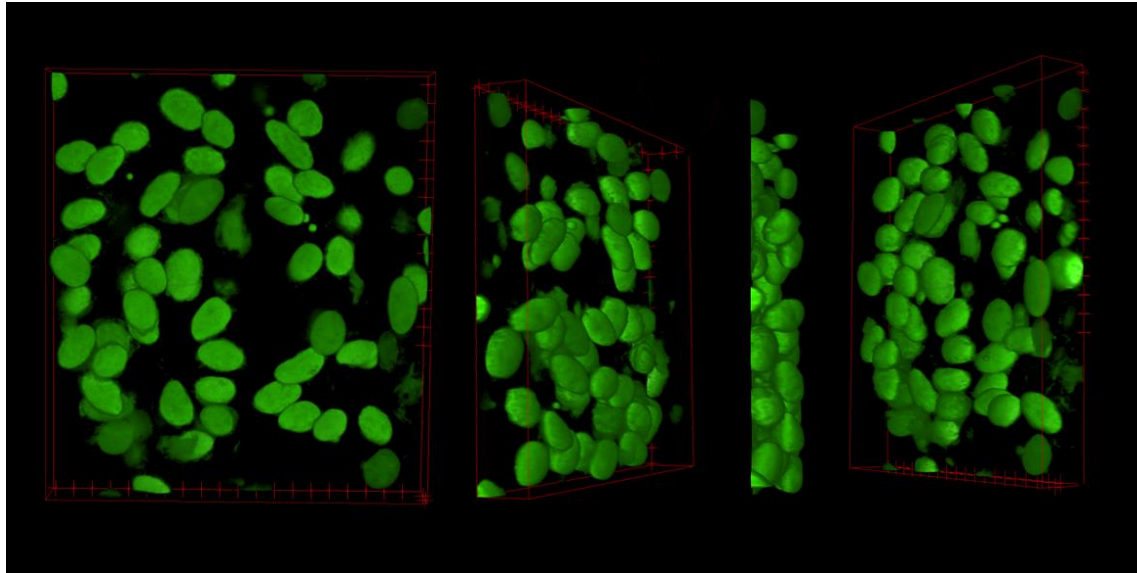


Рис. 4. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия фрагмента конструкта, окрашенного SYTOX® Green. Трехмерная реконструкция выполнена в программе ImageJ (Rasband, 1997–2018)

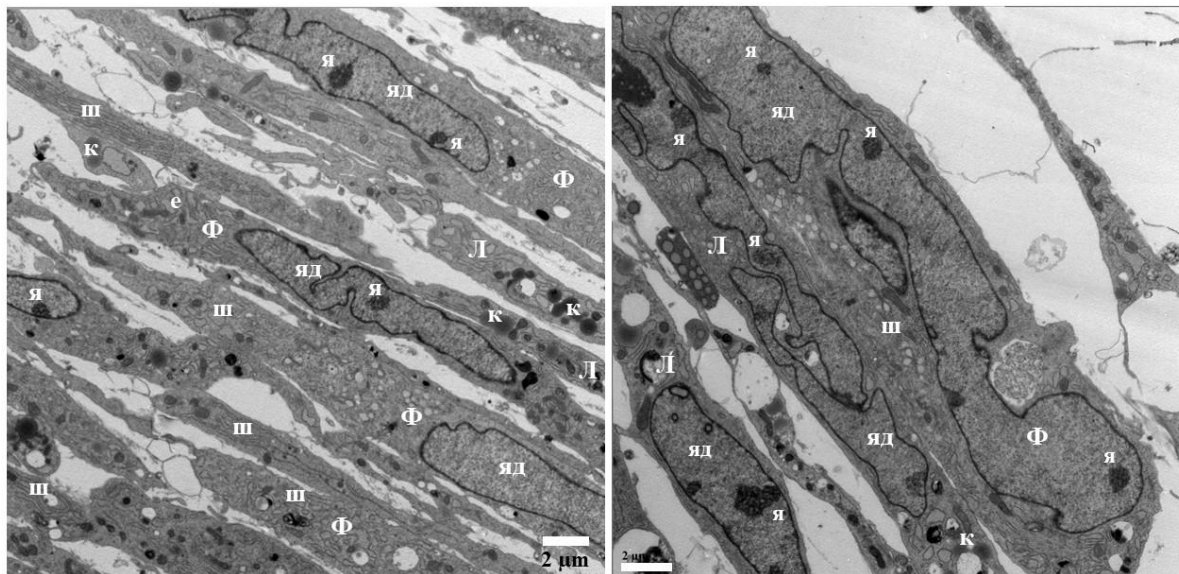


Рис. 5. Трансмиссионная электронная микроскопия клеток в составе тканевого эквивалента, контрастирование тетраоксидом осмия, цитратом свинца и уранилацетатом, шкала соответствует 2 мкм: Ф — фибробласт; Л — липобласт; яд — ядро; я — ядрышко; ш — шероховатый эндоплазматический ретикулум; к — липидные капли

Также отмечается высокая плотность клеток в составе конструкта, которая свидетельствует об увеличении их количества в течение 72 ч культивирования, т.к. такая плотность недостижима в исходной концентрации, использовавшейся при печати ( $2 \times 10^6$  клеток на 1 мл гидрогеля). Клетки в составе конструкта плотно прилегают друг к другу и контактируют мембранами

тел и отростков (рис. 5). Клетки содержат ядра правильной формы с мелкодисперсным хроматином, в ядрах визуализируются одно-два крупных ядрышка — признак активности фибробластов [25–27]. В некоторых случаях ядра клеток имели инвагинации и выпячивания кариолеммы. Цитоплазма фибробластов насыщена органеллами, что отражает высокий уровень

внутриклеточного метаболизма. В цитоплазме визуализируются многочисленные митохондрии, шероховатый эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, лизосомы, центриоли, мультивезикулярные тельца. Цитоплазма липобластов содержит множество включений в виде округлых осмиефильных капель, что также подтверждает факт липогенной дифференцировки ММСК. У клеток развитая сеть эндоплазматического ретикулума, он занимает большую часть цитоплазмы и визуализируется как стопки извитых трубочек и продолговатые цистерны, усеянные рибосомами на стороне, обращенной к цитоплазме. Также не прикрепленные к ретикулуму рибосомы равномерно распределены по всей цитоплазме.

На электронграммах фибробластов при большем увеличении заметна активность комплексов Гольджи, синтезирующих проколлаген (рис. 6 а). В комплексах Гольджи визуализируются диктиосомы, транспортные пузырьки и цистерны. Некоторые цистерны расширены и заполнены осмиефильным электронноплотным веществом, похожим на спутанные нити, что, вероятно, является молекулами проколлагена. Содержимое пузырьков постепенно конденсируется и превращается

в транспортные вакуоли, собирающиеся в секреторные гранулы на обращенной к плазматической мембране стороне комплекса Гольджи. Такая картина активности комплексов Гольджи также указывает на высокую секреторную активность клеток в течение 72 ч в составе конструктора.

Еще одним важным визуализируемым элементом межклеточного взаимодействия является наличие плотных контактов (рис. 6 а, б), которые выглядят как два осмиефильных уплотнения с межклеточной щелью в месте соприкосновения мембран соседних клеток. Плотный контакт — это высокоспециализированный селективный барьер, обеспечивающий прямое соприкосновение белков двух смежных плазматических мембран и позволяющий группам клеток функционировать в качестве структурных единиц. При этом в образце тканевого эквивалента были выявлены плотные контакты как между клетками одного типа (фибробласт/фибробласт и липобласт/липобласт), так и между клетками разных типов: например, на рис. 6 а, б показан плотный контакт между фибробластом и липобластом.

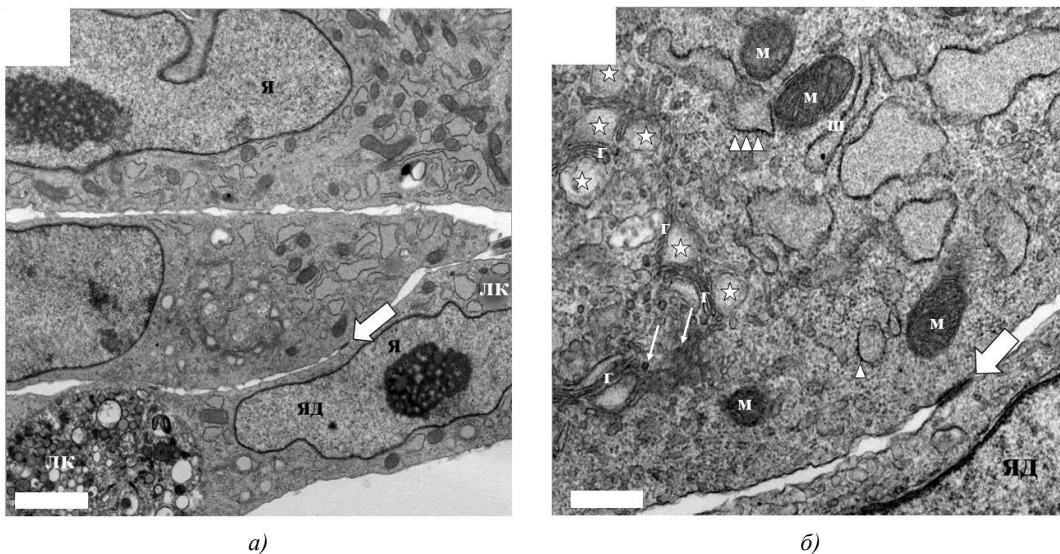


Рис. 6. Трансмиссионная электронная микроскопия, показывающая признаки пролиферации клеток в составе напечатанного тканевого эквивалента после 72 ч культивирования, контрастирование тетраоксидом осмия, цитратом свинца и уранилацетатом, шкала а соответствует 2 мкм, шкала б — 0,5 мкм. а — ультраструктура участка активного фибробласта. Середину электронограммы занимает область комплекса Гольджи. Звездочками отмечены сферические расширения. Цистерны комплекса Гольджи содержат осмиефильный электронноплотный материал в виде спутанных нитей, которые могут быть молекулами проколлагена. Тонкими стрелками показаны везикулы с конденсированным содержимым: яд — ядро; я — ядрышко; г — комплекс Гольджи; м — митохондрия; ш — шероховатый эндоплазматический ретикулум; лк — липидные капли

Развитая сеть эндоплазматического ретикулума [28], высокая активность аппарата Гольджи [29] и многочисленные рибосомы указывают на активные процессы синтеза белка и подтверждают жизнеспособность и хорошую выживаемость клеток в составе тканевого эквивалента как минимум в течение 72 ч культивирования. Данные трансмиссионной электронной микроскопии также подтверждают наличие маркеров

дифференцировки клеток: липидные капли у липобластов и молекулы проколлагена у фибробластов.

**Обсуждение и заключение.** В рамках исследования был разработан новый тканеинженерный метод для производства культивируемых трехмерных тканевых эквивалентов соединительной ткани с использованием дифференцированных ММСК кролика и 3D-биопечати. Воздействие *in vitro* набора индукторов, включающего

среду DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л, 10 % ФБС, 1  $\mu\text{M}$  дексаметазона, 100  $\mu\text{M}$  индометацина, 500  $\mu\text{M}$  3-изобутил-1-метилксантина и 10 мкг/мл инсулина, на ММКС кролика обеспечило их адипогенную дифференцировку, функциональным маркером которой явилось образование липидных капель. Воздействие *in vitro* набора индукторов, включающего среду DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л, 10 % ФБС, 10  $\mu\text{M}$  5-азациитидина и 50  $\mu\text{M}$  гидрокортизона, на ММКС кролика обеспечило их миогенную дифференцировку, функциональным маркером которой явилось образование миофибрилл. Метод экструзионной 3D-биопечати обеспечил формирование трехмерных тканевых эквивалентов соединительной ткани, в составе которых дифференцированные клетки кролика сохраняли жизнеспособность и метаболическую активность, формируя плотные контакты и секреторные везикулы в течение как минимум 72 ч. Морфологический анализ полученного биоэквивалента, включающий конфокальную и просвечивающую электронную микроскопию, подтвердил жизнеспособность и высокую метаболическую активность клеток, что указывает на их потенциал для поддержания функциональности конструкта.

Предложенный метод создания тканевых эквивалентов может быть широко использован: в клинической ветеринарии — для лечения дефектов и повреждений соединительной ткани; в экспериментальной ветеринарии — в качестве модели для изучения закономерностей морфогенеза, цито-, гисто- и органогенеза, дифференцировки клеток и внутриклеточных структур, межклеточных взаимодействий, регенераторных процессов в индивидуальном развитии, их адаптации к воздействию экзогенных и эндогенных факторов у животных на макро-, микро- и ультраструктурном уровне с использованием морфологических и

других методов исследования, скрининга новых лекарственных соединений, а также в качестве фантомов для разработки подходов в лучевой терапии и диагностике. Кроме того, данный метод может быть транслирован в область разработки культивируемых мясных продуктов, так как позволяет получить конечный продукт со свойствами, тождественными тканям продуктивных животных, включая структурную целостность и органолептические свойства.

Явным недостатком технологии является ее высокая стоимость и технологическая сложность крупномасштабного клеточного культивирования в типовых лабораториях. Высокая стоимость определяется, в первую очередь, самым дорогим компонентом культуральной среды — сывороткой плодов коров. Несмотря на многочисленные попытки производства бессывороточных сред и поиска заменителей сыворотки, на данный момент эффективность их при культивировании уступает сыворотке. Для удешевления и оптимизации крупномасштабного культивирования клеток целесообразно использовать биореакторы, что, в совокупности с применением 3D-биопринтера, повышает требования к компетенциям операторов.

К технологическим преимуществам данного метода относится возможность стандартизации и высокая воспроизводимость, что обеспечивается условиями 3D-биопечати: концентрация клеток в гидрогеле и их распределение в конструкте будут одинаковы при воспроизведении, так как печать проводится по заданному цифровому шаблону и ее параметры контролируются на аппаратном и программном уровнях, а применение алгоритмов на основе искусственного интеллекта для контроля клеточного культивирования значительно нивелирует влияние человеческого фактора на конечный результат.

### Список литературы / References

1. Sharun K, El-Husseiny HM, Muthu S. Editorial: Advances In Veterinary Tissue Engineering: Unlocking Potential with Cell-Free and Cell-Based Methods. *Frontiers in Veterinary Science*. 2025;12:1591272. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1591272>
2. Yun SH, Lee DY, Lee J, Mariano EJ, Choi Yeongwoo, Park Jinmo, et al. Current Research, Industrialization Status, and Future Perspective of Cultured Meat. *Food science of animal resources*. 2024;44(2):326–355. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2024.e13>
3. Hubrecht RC, Carter E. The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change. *Animals*. 2019;9(10):754. <https://doi:10.3390/ani9100754>
4. Sulakhya K, Paliwal R, Kisku A, Sahu M, Aditya S, Soni P, et al. Experimental Tools as an “Alternative to Animal Research” in Pharmacology. In book: Singh D, Tiwari P (Eds.). *Software and Programming Tools in Pharmaceutical Research*. Bentham Science Publishers; 2024. P. 170–206. <https://doi.org/10.2174/97898152230191240101>
5. Amelian A, Wasilewska K, Megias D, Winnicka K. Application of Standard Cell Cultures and 3D in Vitro Tissue Models as an Effective Tool in Drug Design and Development. *Pharmacological Reports*. 2017;69:861–870. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.03.014>
6. Мелешина А.В., Быстрова А.С., Роговая О.С., Воротеляк Е.А., Васильев А.В., Загайнова Е.В. Тканеинженерные конструкты кожи и использование стволовых клеток для создания кожных эквивалентов (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2017;9(1):198–220. <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.24>

- Meleshina AV, Bystrova AS, Rogovaya OS, Vorotelyak EA, Vasiliev AV, Zagaynova EV. Skin Tissue-Engineering Constructs and Stem Cells Application for the Skin Equivalents Creation (Review). *Sovremennyyetehnologii v medicine (Modern Technologies in Medicine)*. 2017;9(1):198–218. <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.24>
7. Шкурупий В.А., Ким Л.Б., Ковнер А.В., Черданцева Л.А. Соединительная ткань и проблемы ее патологических состояний. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(4):75–85. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-75-85>
- Shkurupy VA, Kim LB, Kovner AV, Cherdantseva LA. Connective Tissue and the Problems of Its Pathological Conditions. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16(4):75–85. (In Russ.) <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-75-85>
8. Zushin PH, Mukherjee S, Wu JC. FDA Modernization Act 2.0: Transitioning beyond Animal Models with Human Cells, Organoids, and AI/ML-Based Approaches. *The Journal of Clinical Investigation*. 2023;133(21):e175824. <https://doi.org/10.1172/JCI175824>
9. Ravikumar B, Cichońska A, Sahni N, Aittokallio T, Rahman R. Advancements in Rational Multi-Targeted Drug Discovery: Improving the Efficacy-Safety Balance of Small Molecule Cancer Therapeutics. In book: Peters JU (Ed.). *Polypharmacology: Strategies for Multi-Target Drug Discovery*. John Wiley & Sons, Inc.; 2025. P. 109–125. <https://doi.org/10.1002/9781394182862.ch9>
10. Hu J, Lin YY, Chen PJ, Watashi K, Wakita T. Cell and Animal Models for Studying Hepatitis B Virus Infection and Drug Development. *Gastroenterology*. 2019;156(2):338–354. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.06.093>
11. Harb A, Fakhreddine M, Zaraket H, Saleh FA. Three-Dimensional Cell Culture Models to Study Respiratory Virus Infections Including COVID-19. *Biomimetics*. 2021;7(1):3. <https://doi:10.3390/biomimetics7010003>
12. Головин С.Н. Кириченко Е.Ю., Седова Д.А., Ермаков А.М. Перспективы применения клеточной терапии в ветеринарии. *Международный вестник ветеринарии*. 2025;4. (в печати).
- Golovin SN, Kirichenko EYu, Sedova DA, Ermakov AM. Prospects of Cell Therapy Application in Veterinary Medicine. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2025;4. (In Russ.) (in print).
13. Armitage AJ, Miller JM, Sparks TH, Georgiou AE, Reid J. Efficacy of Autologous Mesenchymal Stromal Cell Treatment for Chronic Degenerative Musculoskeletal Conditions in Dogs: A Retrospective Study. *Frontiers in Veterinary Science*. 2023;9:1014687. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1014687>
14. Goel S, Gandhi S, Dubey S, Shah M, Saini S, Arora P, et al. Stem Cell Therapy: Promises and Challenges in Treating Animal Diseases. In book: Mukhopadhyay CS, Choudhary RK, Panwar H, Malik YS (Eds.). *Biotechnological Interventions Augmenting Livestock Health and Production. Livestock Diseases and Management*. Singapore: Springer; 2023. P. 13–38. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-2209-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-99-2209-3_2)
15. Voga M, Kovač V, Majdic G. Comparison of Canine and Feline Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells/Medicinal Signaling Cells with Regard to Cell Surface Marker Expression, Viability, Proliferation, and Differentiation Potential. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;7:610240. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.610240>
16. Fraile AP, González-Cubero E, Martínez-Flórez S, Olivera ER, Villar-Suárez V. Regenerative Medicine Applied to Musculoskeletal Diseases in Equines: A Systematic Review. *Veterinary Sciences*, 2023;10(12):666. <https://doi.org/10.3390/vetsci10120666>
17. Vickram AS, Infant SS, Manikandan S, Sowndharya BB, Gulothungan G, Chopra H. 3D Bio-Printed Scaffolds and Smart Implants: Evaluating Functional Performance in Animal Surgery Models. *Annals of Medicine and Surgery* 2025;87(6):3618–3634. <https://doi.org/10.1097/MS9.0000000000003333>
18. Gallivanone F, D'Ambrosio D, Carne I, D'Arcangelo Micol, Montagna P, Giroletti E, et al. A tri-modal tissue-equivalent anthropomorphic phantom for PET, CT and multi-parametric MRI radiomics. *Physica Medica*. 2022;98:28–39. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2022.04.007>
19. Tello LH. *Burns in Small Animals. Proceedings of 38th World Congress of World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Auckland, New Zealand. March 2013.* <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=5709840&pid=11372&> (accessed: 16.08.2023).
20. Chogan F, Chen Y, Wood F, Jeschke MG. Skin Tissue Engineering Advances in Burns: A Brief Introduction to the Past, the Present, and the Future Potential. *Journal of Burn Care & Research*. 2023;44(Suppl\_1):S1–S4. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irac127>
21. Golovin SN, Kirichenko EY, Khanukaev MM, Logvinov AK. 3D Bioprinting of Hybrid Cultured Meat from Rabbit Cells and Sunflower Protein. *Foods and Raw Materials*. 2026;14(1):52–60. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2026-1-659>
22. Lund P, Pilgaard L, Duroux M, Fink T, Zachar V. Effect of Growth Media and Serum Replacements on the Proliferation and Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells. *Cytotherapy*. 2009;11(2):189–197. <https://doi.org/10.1080/14653240902736266>
23. Freshney RI. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. John Wiley & Sons, Inc. 2010; 732 p. <https://doi.org/10.1002/9780470649367>

24. Nabiullina R, Golovin S, Kirichenko E, Petrushan M, Logvinov A, Kaplya M, et al. 3D Bioprinting of Cultivated Meat Followed by the Development of a Fine-Tuned YOLO Model for the Detection and Counting of Lipoblasts, Fibroblasts, and Myogenic Cells. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*. 2025;30(3):36266. <https://doi.org/10.31083/FBL36266>

25. Hernandez-Verdun D, Roussel P, Thiry M, Sirri V, Lafontaine DL. The Nucleolus: Structure/Function Relationship in RNA Metabolism. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*. 2010;1(3):415–431. <https://doi.org/10.1002/wrna.39>

26. Grummt I. The Nucleolus—Guardian of Cellular Homeostasis and Genome Integrity. *Chromosoma*. 2013;122(6):487–497. <https://doi.org/10.1007/s00412-013-0430-0>

27. Dubois ML, Boisvert FM. The Nucleolus: Structure and Function. In book: Bazett-Jones D, Dellaire G (Eds.). *The Functional Nucleus*. Cham: Springer; 2016. P. 29–49. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-38882-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-38882-3_2)

28. Csala M, Bánhegyi G, Benedetti A. Endoplasmic Reticulum: A Metabolic Compartment. *FEBS Letters*. 2006;580(9):2160–2165. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.03.050>

29. Wang H, Zhang X, Xiu T, Wang H, Li P, Tang B. Fluorescence Probes for Sensing and Imaging within Golgi Apparatus. *Coordination Chemistry Reviews*, 2024;502:215618. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.21>

#### **Об авторах:**

**Сергей Николаевич Головин**, научный сотрудник лаборатории медицинских цифровых изображений на основе базисной модели Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, д. 1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [labbiobez@yandex.ru](mailto:labbiobez@yandex.ru)

**Евгения Юрьевна Кириченко**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биоинженерии Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, д. 1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ResearcherID](#), [kiriche.evgeniya@yandex.ru](mailto:kiriche.evgeniya@yandex.ru)

**Дарья Андреевна Седова**, научный сотрудник лаборатории медицинских цифровых изображений на основе базисной модели Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, д. 1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [dased0va@yandex.ru](mailto:dased0va@yandex.ru)

#### **Заявленный вклад авторов:**

**С.Н. Головин:** разработка концепции, разработка методологии, проведение исследования, валидация результатов, написание черновика рукописи.

**Е.Ю. Кириченко:** научное руководство, визуализация, валидация результатов, написание черновика рукописи.

**Д.А. Седова:** написание рукописи, редактирование.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.**

#### **About the Authors:**

**Sergey N. Golovin**, Research Associate of the Laboratory “Digital Medical Imaging Using the Basic Model”, Don State Technical University (1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [labbiobez@yandex.ru](mailto:labbiobez@yandex.ru)

**Evgeniya Yu. Kirichenko**, Dr.Sci. (Biology), Professor, Head of the Bioengineering Department, Don State Technical University (1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ResearcherID](#), [kiriche.evgeniya@yandex.ru](mailto:kiriche.evgeniya@yandex.ru)

**Darya A. Sedova**, Research Associate of the Laboratory “Digital Medical Imaging Using the Basic Model”, Don State Technical University (1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [dased0va@yandex.ru](mailto:dased0va@yandex.ru)

#### **Claimed Contributorship:**

**SN Golovin:** developing the concept and methodology, conducting research, validating results, writing a draft manuscript.

**EYu Kirichenko:** scientific supervision, visual representation, validating results, writing a draft manuscript.

**DA Sedova:** writing a manuscript, editing.

**Conflict of Interest Statement:** the authors declare no conflict of interest.

**All authors have read and approved the final manuscript.**

**Поступила в редакцию / Received** 05.08.2025

**Поступила после рецензирования / Reviewed** 01.09.2025

**Принята к публикации / Accepted** 05.09.2025

# ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

## INFECTIOUS DISEASES AND ANIMAL IMMUNOLOGY



УДК 619:616.98

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-53-64>

**Доклинические испытания усовершенствованной «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной» на белых мышах и кроликах**



EDN: CGXEWC

В.В. Евстифеев<sup>1,2</sup> , И.Р. Акбашев<sup>1</sup> , Ф.М. Хусаинов<sup>1</sup> , С.И. Яковлев<sup>1</sup> ✉,

Р.З. Хамидуллина<sup>1</sup> , С.В. Иванова<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, г. Казань, Российская Федерация

<sup>2</sup> Казанский ГАУ Институт «Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», г. Казань, Российская Федерация

✉ [arena176@rambler.ru](mailto:arena176@rambler.ru)

### Аннотация

**Введение.** Инфекционные респираторно-кишечные болезни крупного рогатого скота являются многофакторными заболеваниями, что обуславливает ассоциированную вирусную или вирусно-бактериальную этиологию течения инфекционного процесса среди различного поголовья продуктивных животных. Борьба с респираторно-кишечными ассоциированными инфекциями крупного рогатого скота ведется в подавляющем большинстве стран мира и требует эффективных мер и препаратов. Целью исследования явились доклинические испытания экспериментальной серии «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной», усовершенствованной за счет расширения спектра хламидийного антигена, на белых мышах и кроликах.

**Материалы и методы.** Испытания проведены в лаборатории вирусных заболеваний животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань) в период с февраля по ноябрь 2024 г. Были изготовлены два варианта биопрепарата: стандартная ассоциированная вакцина и экспериментальная, в состав хламидийного антигена которой были добавлены штаммы «АМК-16» и «МЗ-89». В качестве лабораторных животных выступили белые мыши и кролики. Вакцины оценивались на стерильность, безвредность, переносимость, антигенную активность, влияние на формирование гуморального противовирусного иммунитета, иммуногенность.

**Результаты исследования.** Было доказано, что оба варианта ассоциированной вакцины стерильны, безвредны и хорошо переносятся лабораторными животными. Изменение состава хламидийного антигена ассоциированной вакцины не оказало негативного влияния на формирование противовирусного гуморального иммунитета у лабораторных животных. Уровень специфических противохламидийных антител у кроликов, иммунизированных усовершенствованной вакциной, был выше, чем в группе кроликов, привитых препаратом, изготовленным по стандартной методике. Индекс защиты в группе белых мышей, привитых усовершенствованным препаратом, был в 1,3 раза выше, по сравнению со стандартным образцом.

**Обсуждение и заключение.** На основании полученных данных можно заключить, что усовершенствованная ассоциированная вакцина, как и стандартная, хорошо переносится лабораторными животными. Расширение спектра хламидийного антигена «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота» дополнительными штаммами не только не оказало негативного эффекта на формирование гуморального противовирусного иммунитета у лабораторных животных, но более того — стимулировало выработку гуморального ответа в отношении хламидийного антигена, способствуя повышению иммуногенности вакцины в 1,3 раза.

**Ключевые слова:** доклинические испытания, ассоциированная вакцина, антиген, иммуногенность, штаммы, хламидии, ИРТ, ПГ-3, ВД-БС, крупный рогатый скот, белые мыши, кролики

Для цитирования. Евстифеев В.В., Акбашев И.Р., Хусайнов Ф.М., Яковлев С.И., Хамидуллина Р.З, Иванова С.В. Доклинические испытания усовершенствованной «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной» на белых мышах и кроликах. *Ветеринарная патология*. 2025;24(3):53–64. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-53-64>

Original Empirical Research

## Preclinical Trials in White Mice and Rabbits of the Improved “Associated Inactivated Emulsion Vaccine against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovine Viral Diarrhea/Mucosal Disease (BVD), Bovine Parainfluenza Virus 3 (BPIV-3) and Chlamydia in Cattle”

Vitaly V. Evstifeev<sup>1,2</sup> , Igizar R. Akbashev<sup>1</sup> , Fidail M. Khusainov<sup>1</sup> , Sergey I. Yakovlev<sup>2</sup> ✉,

Razina Z. Khamidullina<sup>1</sup> , Svetlana V. Ivanova<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute “Kazan Academy of Veterinary Medicine Named after N. E. Bauman” of Kazan State Agrarian University, Kazan, Russian Federation

✉ [arena176@rambler.ru](mailto:arena176@rambler.ru)

### Abstract

**Introduction.** Infectious respiratory and intestinal diseases in cattle are multifactorial diseases, which explains the associated viral or viral-bacterial etiology of the infection among productive livestock. Combating associated respiratory and intestinal infections in cattle is carried in the vast majority of countries in the world and requires efficient measures and medications. The aim of the present research is conducting the preclinical trials in white mice and rabbits of the experimental series of the “Associated inactivated emulsion vaccine against IBR, BVD, BPIV-3 and chlamydia in cattle” improved by expanding the chlamydial antigen spectrum.

**Materials and Methods.** The trials were conducted in the Animal Viral Disease Laboratory of the Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety (Kazan) from February to November 2024. Two versions of the biopharmaceutical were produced: a standard associated vaccine and an experimental vaccine with the AMK-16 and MZ-89 strains added to the chlamydial antigen. White mice and rabbits served as laboratory animals. The vaccines were evaluated for sterility, safety, tolerability, antigenic activity, impact on antiviral humoral immunity and immunogenicity.

**Results.** Both versions of the associated vaccine had proved to be sterile, harmless, and well-tolerated by laboratory animals. Changing the chlamydial antigen composition of the associated vaccine did not have an adverse effect on the development of antiviral humoral immunity in laboratory animals. The level of specific anti-chlamydial antibodies in rabbits vaccinated with the improved vaccine was higher than in the group of rabbits vaccinated with the standard technology vaccine. The protection index in the group of white mice vaccinated with the improved vaccine was 1.3 times higher than that with the standard vaccine.

**Discussion and Conclusion.** Based on the data obtained, it can be concluded that the improved associated vaccine, the same as the standard one, is well tolerated by laboratory animals. Expansion of the chlamydial antigen spectrum of the “Associated vaccine against IBR, BVD, BPIV-3 and Chlamydia in cattle” by adding additional strains did not have any negative effect on the development of antiviral humoral immunity in laboratory animals, but on the contrary had stimulated the development of a humoral response to the chlamydial antigen, thus, boosting the vaccine immunogenicity by 1.3 times.

**Keywords:** preclinical trials, associated vaccine, antigen, immunogenicity, strains, chlamydia, IBR, BPIV-3, BVD, cattle, white mice, rabbits

**For Citation.** Evstifeev VV, Akbashev IR, Khusainov FM, Yakovlev SI, Khamidullina RZ, Ivanova SV. Preclinical Trials in White Mice and Rabbits of the Improved “Associated Inactivated Emulsion Vaccine against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovine Viral Diarrhea/Mucosal Disease (BVD), Bovine Parainfluenza Virus 3 (BPIV-3) and Chlamydia in Cattle. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2025;24(3):53–64. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2025-24-3-53-64>

**Введение.** Инфекционные респираторные и кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота (КРС) представляют собой серьезную проблему для животноводческих хозяйств по всей России. В этиологии патологий участвуют, как правило, несколько возбудителей одновременно, представляющие собой устойчивые ассоциации вирусных и бактериальных агентов,

вызывающие различные по проявлению и тяжести течения заболевания [1–3]. Борьба с респираторно-кишечными ассоциированными инфекциями КРС ведется в животноводческой отрасли в подавляющем большинстве стран мира [3–5]. Немаловажным фактором, обуславливающим необходимость усовершенствования способов этой борьбы, а также профилактики

респираторно-кишечных инфекций, является экономической стороной вопроса: животноводческие комплексы несут огромные финансовые потери в связи с широким распространением ассоциированных инфекций среди поголовья [6, 7].

Возбудители вирусных заболеваний обычно вызывают первичную инфекцию, которая сначала протекает в легкой форме: на этом этапе происходит подавление иммунитета, что впоследствии приводит к повышению восприимчивости к вторичным бактериальным инфекциям [6, 8–10]. Однако в некоторых случаях алгоритм развития инфекционного процесса протекает иначе и в качестве патогена, вызвавшего первичную инфекцию, выступают бактерии, как правило, те, которые способны к длительному персистированию в инфицированном организме, не вызывая при этом ярко выраженных клинических признаков инфекции, например, хламидии [11].

Хламидии — облигатные внутриклеточные паразиты с уникальным двухэтапным циклом развития [12]. Эти микроорганизмы способны инфицировать огромное количество видов животных. Течение инфекционного процесса при хламидиозе даже в разных популяциях одного вида животных обычно не имеет системы [13], что обусловлено эволюционной способностью данного вида микроорганизмов поражать разнообразные системы органов животных, вызывая при этом различные клинические признаки болезни (пневмонии, артриты, конъюнктивиты, энцефалиты и др.). Помимо этого, хламидии способны передаваться от одного вида животных другому, что также играет важную роль в широком распространении этой инфекции среди домашних и диких животных [3, 14].

Наиболее распространенными вирусными патогенами на территории РФ являются возбудители таких инфекций, как инфекционный ринотрахеит (ИРТ), парагрипп-3 (ПГ-3) и вирусная диарея (ВД-БС) [15, 16]. Ранее коллективом ученых Федерального центра токсикологической, радиологической и биологической безопасности (г. Казань) была разработана «Ассоциированная вакцина против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, болезни слизистых, парагриппа-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированная эмульсионная» [16]. Антигенный состав этого биопрепарата включал в себя по одному штамму вирусов ИРТ, ПГ-3, ВД-БС и штамм *Chlamydia psittaci* «250», выделенный от КРС.

Многолетние прикладные и фундаментальные исследования хламидийных инфекций животных позволили установить, что разные штаммы хламидий одного вида, выделенные при разных патологиях от одного и того же вида животных или от других сельскохозяйственных животных, отличаются друг от друга в антигенном отношении. Эти различия в биохимическом и

генетическом строении хламидий напрямую коррелируют с иммуногенностью разных штаммов по отношению друг к другу [17]. Также установлен факт наличия у хламидий способности к горизонтальному переносу генов среди разных видов этого возбудителя, благодаря чему некоторые штаммы хламидий в своем биохимическом составе могут содержать некоторые антигенные эпитопы, специфичные для других видов этого патогена [18].

Ранее нами были изучены антигенные и иммуногенные свойства разных штаммов хламидий, выделенных на территориях различных субъектов РФ [17, 19, 20]. В ходе исследований нами была сконструирована новая антигенная композиция, состоящая из трех наиболее иммуногенных и отличающихся в антигенном отношении штаммов хламидий, выделенных от разных видов животных. Помимо этого, после полногеномного секвенирования и последующего биоинформационного анализа нуклеотидной последовательности хромосомы одного из штаммов, входящих в новую антигенную композицию, было установлено, что этот штамм содержит антигенные эпитопы, специфичные сразу к двум видам хламидий — *Chlamydia psittaci* и *Chlamydia abortus* [21]. В связи с этим, перспективно было применить в составе ассоциированной вакцины новую композицию хламидийного антигена, включающую три штамма хламидий, что и было сделано.

Таким образом, в состав «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной» были включены антигены еще двух штаммов хламидий — «АМК-16» (возбудитель артрита и аборта коз) и «МЗ-89» (возбудитель менингоэнцефалита телят). При этом количественное соотношение антигенов разных видов возбудителей в составе вакцины осталось прежним. Доклинические испытания на лабораторных животных имели целью выяснить, как повлияло изменение композиции хламидийного антигена на свойства «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной».

**Материалы и методы.** Исследование проводили на базе лаборатории вирусных заболеваний животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань) в период с февраля по ноябрь 2024 г.

**Штаммы.** Использовались следующие штаммы вирусов и хламидий:

- штамм «ВК-1» вируса ВД-БС, инфекционный титр  $10^{6,87}$  ТЦД<sub>50</sub>/ ml;
- вакцинный штамм «ТК-А (ВИЭВ)-В-2» вируса ИРТ крупного рогатого скота;
- референтный штамм «ПТК-45/86» вируса ПГ-3 крупного рогатого скота;

– штамм *Chlamydia psittaci* «АМК-16», выделенный из патологического материала абортировавшей козы;

– штамм *Chlamydia psittaci* «250», выделенный из патологического материала абортировавшей коровы;

– штамм *Chlamydia psittaci* «МЗ-89», выделенный из мозга теленка при энцефалитной форме течения хламидийной инфекции;

– штамм *Chlamydia psittaci* «РС-85», выделенный из патологического материала абортировавшей свиньи.

**Питательные среды.** Стерильность биопрепаратов оценивали путем их высева на питательные среды: мясопептонный агар (МПА); мясопептонный бульон (МПБ); мясопептонный печеночный бульон и среду Сабуро. Для культивирования и поддержания культуры клеток использовались следующие питательные среды: синтетическая среда 199; сбалансированный раствор Хэнкса; эмбриональная сыворотка крупного рогатого скота, изготовленная ВНИВИ; среда Игла MEM (Minimum Essential Medium) с глутамином, pH 7,5–7,6.

**Культуры клеток.** Культивирование вирусов осуществляли на перевиваемой культуре клеток почки быка «MDBK».

**Биологические модели.** Биомассу хламидий получали путем заражения куриных эмбрионов штаммами хламидий в желточный мешок.

**Лабораторные животные.** Белые мыши и кролики.

В ходе проведения экспериментальных манипуляций с животными были соблюдены требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Животные содержались в оптимальных условиях, имели свободный доступ к кормам и воде.

**Реактивы и тест-системы.** Серологические исследования проводили с применением следующих диагностических тест-систем:

– «Набор антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных» (РОСС RU.ФВ01.Н00022) производства ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань);

– «Набор для диагностики парагриппа-3 крупного рогатого скота» (ФКП «Курская биофабрика – Фирма «БИОК»);

– «Набор для выявления антител к вирусу инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота иммуноферментным методом «ИРТ-СЕРОТЕСТ» (ООО «Ветбиохим», г. Москва);

– «Набор для иммуноферментной диагностики вирусной диареи – болезни слизистых (ВД-БС) крупного рогатого скота» (ВИЭВ, г. Москва).

**Состав вакцин.** Для проведения исследования были изготовлены два различных по антигенному составу варианта ассоциированной вакцины. Первая (стандартная) серия биопрепарата включала в себя штаммы

вирусов: ПГ-3 — «ПТК-45/86», ВД-БС — «ВК-1», ИРТ — «ТК-А (ВИЭВ)-В-2» и хламидий — «250». При изготовлении второй (экспериментальной) серии вакцины использовались аналогичные штаммы вирусов, а в состав хламидийного антигена были добавлены еще два штамма — «АМК-16» и «МЗ-89». Количество антигенов всех штаммов в хламидийном антигене находились в равных пропорциях. В готовых обоих вариантах вакцины антигены вирусов и хламидий были представлены в равном соотношении: ПГ-3, ИРТ, ВД-БС и хламидии в пропорции 1:1:1:1. В качестве вспомогательного компонента при создании каждой серии вакцины использовали масло-ланолиновый адьювант (МЛА). Эмульсия вакцины представляла собой систему вода-масло.

**Методы.** Определение стерильности вакцин проводили в соответствии с «ОФС 1.2.4.0003.15 Общая фармакопейная статья. Стерильность» (п. 2.3) методом прямого посева.

Определение безвредности экспериментальных препаратов проводили в соответствии с ГОСТ 31926. Для каждой серии вакцины были сформированы группы по 15 белых мышей в возрасте от 2 до 3 месяцев с живой массой от 18 до 25 г. Подготовленные пробы исследуемых препаратов вводили животным внутривентриально, в объеме 0,25 см<sup>3</sup>. Далее, на протяжении 10 суток после введения вакцины, проводили ежедневные клинические осмотры привитых животных с целью выявления больных или павших особей. Вакцина считалась безвредной, если на протяжении всего срока наблюдения за животными у них не выявлялись ухудшение общего состояния или не фиксировали случаи гибели.

Для оценки переносимости и антигенной активности вакцин 12 кроликов были разделены на три группы по 4 особи в каждой. Первую группу животных иммунизировали стандартной серией вакцины, вторую — экспериментальной. Животные третьей группы вакцинации не подвергались и являлись контролем. Биопрепараты животным вводили внутримышечно в область бедра в объеме 0,5 см<sup>3</sup>.

При оценке переносимости вакцин кроликами учитывали следующие показатели:

- общее состояние животных;
- общая температура тела после иммунизации;
- наличие местной реакции на месте введения вакцины;
- изменения аппетита после иммунизации;
- поведенческие реакции.

Оценка переносимости вакцин проводилась в течение первых 10 суток после иммунизации. Ежедневно, в ходе проведения клинических осмотров животных, фиксировались и учитывались вышеперечисленные показатели. Общая температура тела измерялась при помощи медицинского ртутного термометра. Общее состояние оценивали визуально, основное внимание обращали на позы животных, их шерстный покров

и походку. Об аппетите животных судили по наличию или отсутствию корма в кормушках после кормления. О переносимости вакцин судили по отсутствию местной и общей реакции животных на введение биопрепарата.

Оценку антигенной активности вакцин проводили при помощи серологических реакций. Для этого у исследуемых животных систематически в течение 6 месяцев (на 30-е, 60-е, 90-е и 180-е сутки после вакцинации) отбирались пробы сывороток крови. Концентрация антител, специфичных к вирусу ПГ-3, определялась в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Уровень противохламидийных антител в сыворотках крови иммунизированных животных определяли путем постановки реакции связывания комплемента (РСК). Специфические антитела к вирусам ИРТ и ВД-БС определялись при помощи иммуноферментного анализа (ИФА).

Способность вакцин вызывать выработку противохламидийного иммунитета у иммунизированных животных определяли в остром опыте на белых мышках ( $n=180$ ). Для каждой серии вакцины были сформированы по четыре опытные (всего 8 опытных групп) и четыре контрольные группы лабораторных животных по 15 особей в каждой. Животным опытных групп вводили исследуемые препараты подкожно в объеме  $0,2 \text{ см}^3$ . На 30-е сутки после иммунизации животные всех групп были заражены различными штаммами хламидий. Первые опытные группы мышшей заражали штаммом «АМК-16», вторые — «РС-85», третьи — «250», четвертые — «МЗ-89». Контрольные группы были инфицированы аналогичным способом.

Об иммуногенности биопрепаратов судили по индексу защиты, который вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A}{B}, \quad (1)$$

где  $X$  — индекс защиты;  $A$  — количество павших животных в контрольных группах;  $B$  — количество павших животных в иммунизированных группах.

Для подтверждения хламидийной этиологии гибели инфицированных мышшей проводили исследование мазков-отпечатков под иммерсионной системой светового микроскопа (*Nikon Eclipse*, Япония). Мазки-отпечатки готовили из внутренних органов павших животных и окрашивали по модифицированному методу Стемпа.

**Результаты исследования.** Высевом проб двух вакцин (усовершенствованной и стандартной) на питательные среды МПА, МПБ, МППБ и Сабура было установлено отсутствие роста микрофлоры на питательных средах в течение срока наблюдения, что подтверждало стерильность исследуемых препаратов.

Введение экспериментального и стандартного образцов вакцин белым мышам не вызвало у них никаких побочных реакций и негативных патологических процессов в течение срока наблюдений, что указывало на безвредность препаратов.

Наблюдения за иммунизированными и интактными кроликами в ходе изучения переносимости вакцин показали, что на протяжении всего срока исследования средняя температура тела животных двух опытных, вакцинированных разными вариантами ассоциированной вакцины, и контрольной групп практически не изменялась и находилась в пределах от плюс  $38,8^\circ\text{C}$  до плюс  $39,0^\circ\text{C}$ . Все изучаемые показатели находились в пределах физиологической нормы.

При проведении ежедневных клинических осмотров иммунизированных кроликов патологических состояний выявлено не было. Общее состояние животных было удовлетворительным, аппетит сохранен, аномальные поведенческие реакции отсутствовали. На месте введения биопрепаратов у животных опытных групп наблюдалась небольшая припухлость, которая рассасывалась в течение 10–15 суток после прививки, что допустимо при иммунизации эмульсионными вакцинами.

Для определения влияния на формирование поствакцинального гуморального иммунитета были проведены серологические исследования, в ходе которых установлен уровень специфических антител к антигенам, использованным в составе экспериментальной и стандартной вакцин, в крови кроликов в разные сроки после иммунизации. Результаты серологических исследований представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что вакцинация кроликов обоими вариантами биопрепаратов вызвала у них выработку как противовирусных, так и противохламидийных антител. На 30-е сутки после вакцинации уровень иммуноглобулинов, специфичных к вирусу парагриппа-3 у животных, иммунизированных стандартным препаратом, варьировался в пределах титров от 1:80 до 1:320. У всех кроликов, иммунизированных экспериментальным препаратом, на этот срок исследования титры антител к вирусу ПГ-3 были равны 1:160. Средние титры иммуноглобулинов к вирусу ПГ-3 в двух группах были равны титру 1:160. Концентрация противовирусных антител, специфичных к вирусу инфекционного ринотрахеита, в двух группах на 30-е сутки исследования находилась в пределах титров от 1:400 до 1:1600.

Также не было выявлено значительной разницы в формировании гуморального иммунитета к вирусу ВД-БС. На 30-е сутки исследования иммуноглобулины, специфичные к этому вирусу, находились в пределах титров от 1:800 до 1:1600. Небольшая разница была выявлена на 30-е сутки после вакцинации при формировании гуморального противохламидийного иммунитета. В группе, иммунизированной стандартным препаратом, у всех животных концентрация комплементсвязывающих иммуноглобулинов находилась на уровне, равном титру 1:20. В группе животных, иммунизированных экспериментальным препаратом, средний титр антител был несколько выше и равнялся титру 1:30.

Испытания антигенной активности стандартного и экспериментального вариантов «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота» на кроликах

Антиген / Тест	Вариант вакцины	Номер животного	Титры антител			
			30-е сутки	60-е сутки	90-е сутки	180-е сутки
ПГ-3 /РТГА	Стандарт	1	1:80	1:1280	1:1280	1:1280
		2	1:80	1:640	1:1280	1:1280
		3	1:160	1:640	1:640	1:640
		4	1:320	1:640	1:2560	1:2560
		Средний титр	<b>1:160</b>	<b>1:800</b>	<b>1:1440</b>	<b>1:1440</b>
	Эксперимент	1	1:160	1:1280	1:1280	1:1280
		2	1:160	1:1280	1:2560	1:2560
		3	1:160	1:640	1:1280	1:640
		4	1:160	1:320	1:1280	1:640
		Средний титр	<b>1:160</b>	<b>1:880</b>	<b>1:1600</b>	<b>1:1280</b>
ИРТ/ ИФА	Стандарт	1	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		2	1:400	1:3200	1:3200	1:3200
		3	1:800	1:1600	1:6400	1:3200
		4	1:800	1:1600	1:6400	1:6400
		Средний титр	<b>1:900</b>	<b>1:2400</b>	<b>1:5600</b>	<b>1:4800</b>
	Эксперимент	1	1:400	1:400	1:1600	1:1600
		2	1:400	1:1600	1:6400	1:3200
		3	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		4	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		Средний титр	<b>1:1000</b>	<b>1:2100</b>	<b>1:5200</b>	<b>1:4400</b>
ВД-БС/ ИФА	Стандарт	1	1:1600	1:6400	1:6400	1:3200
		2	1:1600	1:1600	1:3200	1:6400
		3	1:800	1:800	1:1600	1:1600
		4	1:800	1:1600	1:3200	1:1600
		Средний титр	<b>1:1200</b>	<b>1:2600</b>	<b>1:3600</b>	<b>1:3200</b>
	Эксперимент	1	1:800	1:1600	1:3200	1:800
		2	1:1600	1:3200	1:3200	1:3200
		3	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		4	1:800	1:800	1:1600	1:1600
		Средний титр	<b>1:1200</b>	<b>1:2200</b>	<b>1:3600</b>	<b>1:3000</b>
Хламидиоз/ РСК	Стандарт	1	1:20	1:20	1:80	1:80
		2	1:20	1:20	1:40	1:40
		3	1:20	1:20	1:80	1:80
		4	1:20	1:40	1:40	1:40
		Средний титр	<b>1:20</b>	<b>1:20</b>	<b>1:60</b>	<b>1:60</b>
	Эксперимент	1	1:20	1:40	1:80	1:80
		2	1:40	1:80	1:160	1:80
		3	1:20	1:20	1:80	1:80
		4	1:40	1:40	1:80	1:80
		Средний титр	<b>1:30</b>	<b>1:45</b>	<b>1:100</b>	<b>1:80</b>

Следует отметить, что самая низкая концентрация как противовирусных, так и противохламидийных иммуноглобулинов, была выявлена на 30-е сутки после вакцинации. В течение двух последующих месяцев в сыворотках крови иммунизированных животных наблюдали увеличение концентрации антител, специфичных ко всем антигенам, входящим в состав ассоциированной вакцины. Так, на 90-е сутки к вирусу ПГ-3 в РТГА были установлены средние титры антител на уровне 1:1440 и 1:1600 к стандартному и экспериментальному вариантам вакцины соответственно. Средние

титры специфических антител к вирусу ИРТ в ИФА в этот промежуток времени находились в пределах титров 1:5600 для стандартного образца вакцины и 1:5200 для экспериментального. К вирусу ВД-БС на 90-е сутки после вакцинации средние титры противовирусных антител в обеих группах равнялись титру 1:3600.

Несколько иная картина наблюдалась при исследовании сывороток крови с хламидийным антигеном, где была выявлена существенная разница между уровнем антител в двух группах вакцинированных кроликов. Так, средний титр антител в РСК с хламидийным

антигеном в группе животных, вакцинированных стандартным образцом биопрепарата, был равен 1:60, в то время как в группе лабораторных животных, иммунизированных экспериментальным препаратом, средний титр был выше и составил 1:100. Следует отметить, что такая картина наблюдалась и в другие сроки исследования, на 60-е и 180-е сутки.

К 180-м суткам концентрация противовирусных и противохламидийных антител в сыворотках крови иммунизированных животных начала снижаться в обеих группах, но всё равно в экспериментальной группе она

была выше. При этом существенная разница между уровнем антител к специфическим антигенам по группам не выявлялась за исключением хламидийного антигена, к которому более высокий уровень антител выявлялся в группе животных, вакцинированных экспериментальным вариантом.

На рис. 1, 2, 3 и 4 представлена динамика средних титров специфических антител к вирусным и хламидийным антигенам в течение всего срока наблюдений за животными (для наглядности — отдельно по каждому антигену).

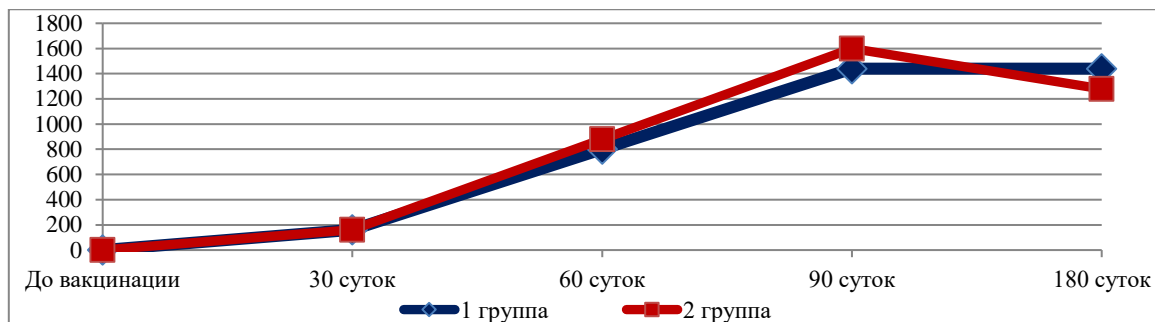


Рис. 1. Средние титры противовирусных антител, специфичных к возбудителю ПП-3

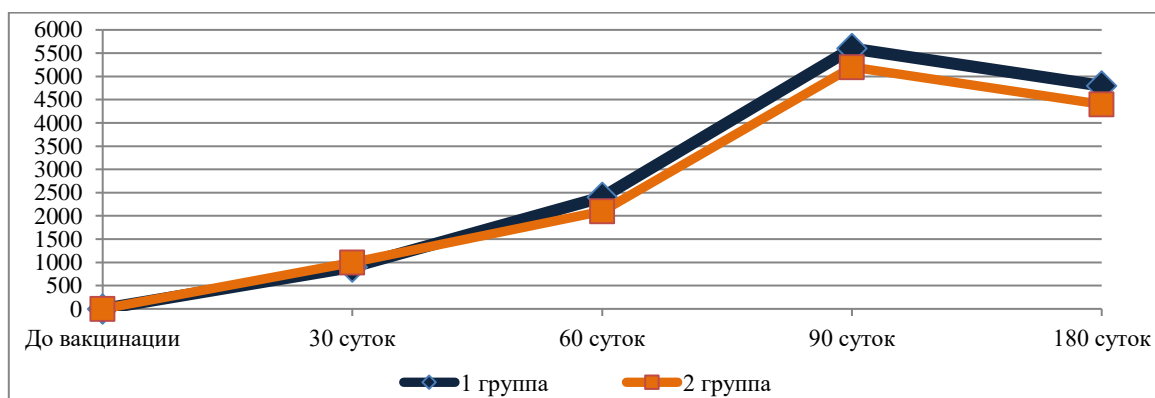


Рис. 2. Средние титры противовирусных антител, специфичных к возбудителю ИРТ

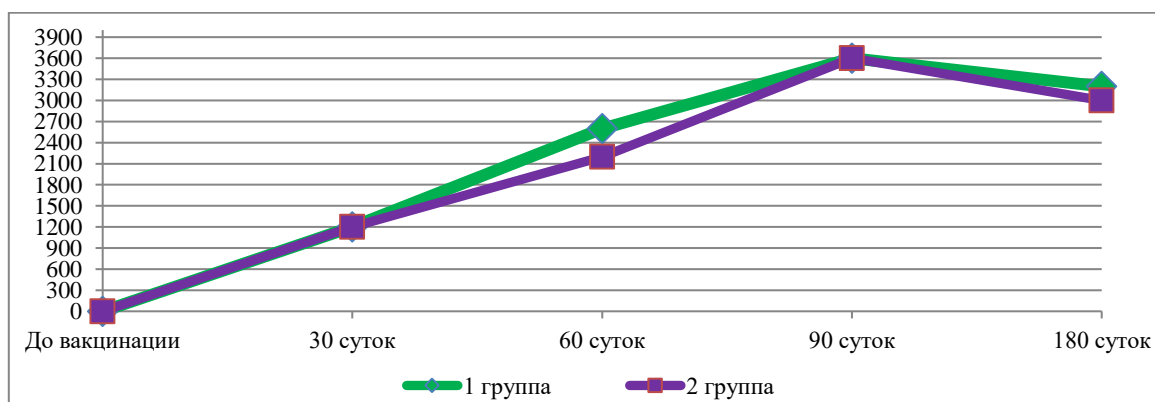


Рис. 3. Средние титры противовирусных антител, специфичных к возбудителю ВД-БС

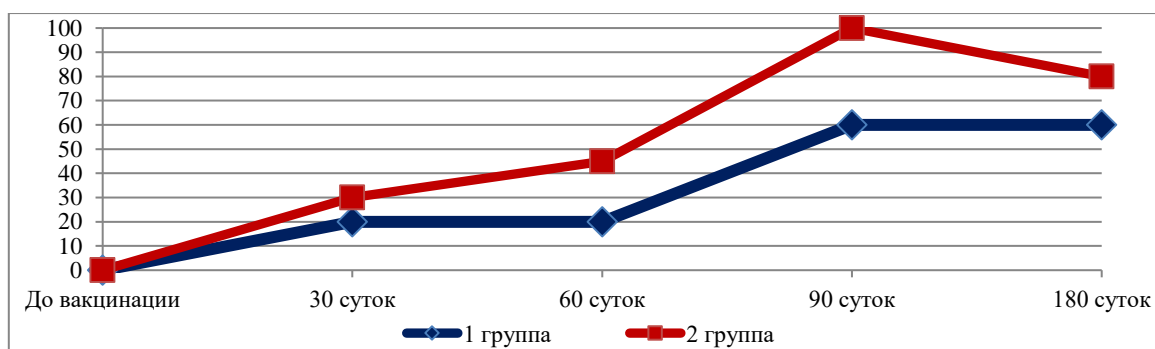


Рис. 4. Средние титры противохламидийных антител

Представленные данные (рис. 1, 2, 3 и 4) свидетельствуют о том, что изменение состава хламидийного антигена в ассоциированной вакцине не оказало негативного влияния на формирование гуморального противовирусного иммунитета, но позволило повысить выработку специфических противохламидийных антител в сыворотках крови иммунизированных животных.

Для определения влияния на иммуногенность усовершенствованной вакцины был проведен острый опыт на лабораторных белых мышах. Первую и вторую группы животных иммунизировали модифицированной вакциной и стандартным образцом соответственно. Далее проводили заражение всех групп животных четырьмя производственными штаммами хламидий. Результаты этих исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

Исследование иммуногенности стандартного и экспериментального образцов вакцин в остром опыте на белых мышах

Номер серии вакцины для иммунизации	Штамм для заражения	Количество павших животных	Количество выживших животных	Индекс защиты
Стандарт	«250»	4	11	3,5
	«РС-85»	3	12	4,3
	«АМК-16»	4	11	3,75
	«МЗ-89»	3	12	4,7
<b>Всего по группам</b>		<b>14</b>	<b>46</b>	<b>4</b>
Эксперимент	«250»	3	12	4,7
	«РС-85»	2	13	6,5
	«АМК-16»	2	13	7,5
	«МЗ-89»	2	13	7
<b>Всего по группам</b>		<b>9</b>	<b>51</b>	<b>6,2</b>
Контроль	«250»	14	1	-
	«РС-85»	13	2	-
	«АМК-16»	15	-	-
	«МЗ-89»	14	1	-
<b>Всего по группам</b>		<b>56</b>	<b>4</b>	<b>-</b>

Как видно из таблицы 2, из 60 мышей, иммунизированных стандартной вакциной, после заражения четырьмя штаммами хламидий выжило 46 особей. Индексы защиты в группах белых мышей после инфицирования возбудителями хламидиоза находились в пределах показателей от 3,5 до 4,7. Средний индекс защиты по четырем группам белых мышей, вакцинированных стандартным препаратом, был равен 4.

В группах мышей, иммунизированных усовершенствованной ассоциированной вакциной, количество

выживших животных было значительно выше (51 особь). Индексы защиты при заражении разными штаммами хламидий находились в пределах показателей от 4,7 до 7,5. Средний индекс защиты по всем группам, зараженным разными штаммами хламидий и вакцинированных усовершенствованным препаратом, был равен 6,2, что в 1,3 раза выше по сравнению со стандартным образцом.

В контрольных группах после заражения вирулентной культурой хламидий разных штаммов в живых осталось только 4 (6,7 %) из 60 белых мышей.

**Обсуждение и заключение.** Данные, полученные в ходе доклинических испытаний усовершенствованной «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПП-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной», позволяют утверждать, что она переносится лабораторными животными так же

хорошо, как и стандартная. Изменение состава хламидийного антигена препарата не оказывает негативного эффекта на формирование гуморального противовирусного иммунитета у лабораторных животных, напротив, добавление в состав вакцины двух штаммов хламидий стимулирует выработку гуморального ответа в отношении хламидийного антигена и в 1,3 раза повышает иммуногенность вакцины по сравнению со стандартным образцом.

### Список литературы / References

- Murray GM, Cassidy JP, Clegg TA, Tratalos JA, McClure J, O'Neill RG, et al. A Retrospective Epidemiological Analysis of Risk Factors for a Primary Necropsy Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. *Preventive Veterinary Medicine*. 2016;132:49–56. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.009>
- Callaby R, Toye P, Jennings A, Thumbi SM, Coetzer JA, Conradie Van Wyk IC, et al. Seroprevalence of Respiratory Viral Pathogens of Indigenous Calves in Western Kenya. *Research in Veterinary Science*. 2016;108:120–124. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.08.010>
- Притыченко А.В., Красочко И.А. Иммуногенность инактивированной ассоциированной вакцины против вирусных респираторных инфекций крупного рогатого скота. В: *Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной Дню Белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней*. Витебск; 2023. С. 95–97.
- Prytychenko AV, Krasochko IA. Immunogenicity of the Inactivated Associated Vaccine against Virus Respiratory Infections of Cattle. In: *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference Dedicated to the Day of Belarusian Science and the 95th Anniversary of the Department of Epizootiology and Infectious Diseases "Current Problems of Infectious Pathology in Animal and Ways to Solve Them"*. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine; 2023. P. 95–97. (In Russ.)
- Murray GM, O'Neill RG, More SJ, McElroy MC, Earley B, Cassidy JP. Evolving Views on Bovine Respiratory Disease: An Appraisal of Selected Control Measures – Part 2. *The Veterinary Journal*. 2016;217:78–82. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.09.013>
- Bell RL, Turkington HL, Cosby SL. The Bacterial and Viral Agents of BRDC: Immune Evasion and Vaccine Developments. *Vaccines*. 2021;9(4):337. <https://doi.org/10.3390/vaccines9040337>
- Grissett GP, White BJ, Larson, RL. Structured Literature Review of Responses of Cattle to Viral and Bacterial Pathogens Causing Bovine Respiratory Disease Complex. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015;29(3):770–780. <https://doi.org/10.1111/jvim.12597>
- Brodersen BW, Kelling CL. Effect of Concurrent Experimentally Induced Bovine Respiratory Syncytial Virus and Bovine Viral Diarrhea Virus Infection on Respiratory Tract and Enteric Diseases in Calves. *American Journal of Veterinary Research*. 1998;59(11):1423–1430.
- Woolums AR, Ames TR, Baker JC. The Bronchopneumonias (Respiratory Disease Complex of Cattle, Sheep, and Goats). In: *Large Animal Internal Medicine*; Louis, MO: Mosby Elsevier; 2015. P. 584–603.
- Красочко П.А., Красочко П.П., Иващенко И.А. Изучение безвредности различных вариантов ассоциированной вирусно-бактериальной вакцины. В: *Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня рождения доктора ветеринарных наук, профессора Смирновой Нины Ивановны и Дню белорусской науки*. Витебская государственная академия ветеринарной медицины: Витебск; 2024. С. 79–84.
- Krasochko PA, Krasochko PP, Ivashchenko IA. Harmlessness Study of Different Variants of the Associated Virus-Bacterial Vaccine. In: *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference Dedicated to the 95th Anniversary of the Birth of Professor N. I. Smirnova and the Day of Belarusian Science "Topical Issues of Veterinary Virology, Microbiology and Bee Diseases in Modern Conditions"*. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine; 2024. P. 79–84. (In Russ.)
- Глотов А.Г., Глотова Т.И., Нефедченко А.В. Этиологическая структура массовых респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота в хозяйствах, занимающихся производством молока. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2008;3(183):72–78.
- Glotov AG, Glotova TI, Nefedchenko AV, Koteneva SV, Budulov NR, Kungurtseva OV. Etiological Structure of Mass Respiratory Diseases in Young Cattle in Dairy Farms. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2008;3(183):72–78.
- Федорова В.А., Ляпина А.М., Хижнякова М.А., Зайцев С.С., Салтыков Ю.В., Субботина И.А. и др. *Хламидиозы животных и человека*. Москва: Наука; 2019. 135 с.

Fedorova VA, Lyapina AM, Khizhnyakova MA, Zaitsev SS, Saltykov YuV, Subbotina IA, et al. *Chlamydia of Animals and Humans*. Moscow: Nauka; 2019. 135 p.

12. Мустафаева Н.А., Сафарова С.А., Джумшудова Ф.А. Бабанлы Л.Т., Мамедова М.А. Хламидиоз сельскохозяйственных животных. *Прикаспийский вестник ветеринарии*. 2023;(1(2)):24–28.

Mustafayeva NA, Safarova SA, Jumshudova FA, Babanly LT, Mammadova MA. Chlamydia of Farm Animals. *Priskaspiiskii vestnik veterinarii (Caspian Bulletin of Veterinary Medicine)*. 2023;(1):24–28.

13. Равилов А.З., Гаффаров Х.З., Равилов Р.Х. *Хламидиоз животных*. Монография. Казань: Издательство «Фэн» Академии наук Республики Татарстан, 2004. 368 с.

Ravilov AZ, Gaffarov KhZ, Ravilov RKh. *Animal Chlamydia*. Kazan: “Fehn” Publishing House of the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan; 2004. 368 p.

14. Borel N, Sachse K. Zoonotic Transmission of *Chlamydia* Spp.: Known for 140 Years, but Still Underestimated. In book: Sing A. (Ed.) *Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals*. Cham: Springer; 2023. P. 1–28. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3\\_53-1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3_53-1)

15. Акбашев И.Р. *Усовершенствование средств специфической профилактики вирусно-хламидийных инфекций крупного рогатого скота*. Дис. канд. ветеринар. наук. Казань; 2021. 129 с.

Akbashev IR. *Improvement of Means of Specific Prevention of Viral Chlamydia Infections in Cattle*. Cand. Sci. (Veterinary Sciences) Dissertation. Kazan; 2021. 129p

16. Евстифеев В.В., Гумеров В.Г., Хусаинов Ф.М. Каримуллина И.Г., Акбашев И.Р., Яковлев С.И. и др. Разработка ассоциированной вакцины против ИРТ, ПГ-3, ВД-БС и хламидиоза крупного рогатого скота. *Ветеринарный врач*. 2020;(6):21–28. <https://doi.10.33632/1998-698X.2020-6-21-28>

Evstifeev VV, Gumerov VG, Khusainov FM, Kharimullina IG, Akbashev IR, Yakovlev SI, et al. Development of Associated Vaccine against PIV-3, IBR, BVD and Chlamydiosis of Cattle. *Veterinary Vrach (Veterinarian)*. 2020;(6):21–28. (In Russ.) <https://doi.10.33632/1998-698X.2020-6-21-28>

17. Яковлев С.И. *Усовершенствование средств специфической профилактики хламидиоза животных*. Дис. канд. ветеринар. наук. Москва; 2022. 138 с.

Yakovlev SI. *Improvement of Means of Specific Prevention of Chlamydia in Animals*. Cand. Sci. (Veterinarian Sciences) Dissertation. Moscow; 2022. 138 p. (In Russ.)

18. Feodorova VA, Zaitsev SS, Khizhnyakova MA, Saltykov YuV, Evstifeev VV, Khusainov FM, et al. Data of de Novo Genome Assembly of the Chlamydia Psittaci Strain Isolated from the Livestock in Volga Region, Russian Federation. *Data Brief*; 2020;29:105190. <https://doi.10.1016/j.dib.2020.105190>

19. Евстифеев В.В. *Разработка и усовершенствование биологических препаратов для диагностики и специфической профилактики хламидиоза животных*. Дис. доктор. биолог. наук. Казань; 2015. 417 с.

Evstifeev VV. *Development and Improvement of Biological Preparations for the Diagnosis and Specific Prevention of Animal Chlamydiosis*. Dr.Sci.(Biology) Dissertation. Kazan; 2015. 417 p. (In Russ.)

20. Zaitsev S, Khizhnyakova M, Saltykov Yu, Evstifeev V, Khusainov F, Ivanova S, et al. Complete Genome Sequence of *Chlamydia Psittaci* AMK-16, Isolated from a Small Ruminant in the Middle Volga Region, Russia. *Microbiology Resource Announcements*; 2024;13(5):e0054323. <https://doi.10.1128/mra.00543-23>

21. Feodorova VA, Zaitsev SS, Lyapina AM, Kichemazova NV, Saltykov YuV, et al. Whole Genome Sequencing Characteristics of *Chlamydia Psittaci* Caprine AMK-16 Strain, a Promising Killed Whole Cell Veterinary Vaccine Candidate against Chlamydia Infection. *PLoS ONE*. 2023;18(10):e0293612. (In Russ.) <https://doi.10.1371/journal.pone.0293612>

#### **Об авторах:**

**Виталий Валерьевич Евстифеев**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности – Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (420075, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок, д. 2); профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Института «Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» Казанского государственного аграрного университета (420029, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Сибирский Тракт, д. 35), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [ResearcherID](#), [vit.evstifeev@yandex.ru](mailto:vit.evstifeev@yandex.ru)

**Ильгизар Расилович Акбашев**, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности – Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (420075, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок, д. 2), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [akbashev92@mail.ru](mailto:akbashev92@mail.ru)

**Фидайль Миннигалеевич Хусаинов**, доктор ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности – Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (420075, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок, д. 2), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [fidail63@mail.ru](mailto:fidail63@mail.ru)

**Сергей Игоревич Яковлев**, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности – Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (420075, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок, д. 2), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [arena176@rambler.ru](mailto:arena176@rambler.ru)

**Разина Зиннатулловна Хамидуллина**, младший научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности – Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (420075, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок, д. 2), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [Hamidul1@mail.ru](mailto:Hamidul1@mail.ru)

**Светлана Викторовна Иванова**, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности – Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (420075, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок, д. 2), [SPIN-код](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [9274281396@mail.ru](mailto:9274281396@mail.ru)

*Заявленный вклад авторов:*

**В.В. Евстифеев:** научное руководство, формирование основной концепции, цели исследования.

**И.Р. Акбашев:** сбор и обработка материала, подготовка текста.

**Ф.М. Хусаинов:** анализ результатов исследований, формирование выводов, подготовка и доработка текста.

**С.И. Яковлев:** сбор и обработка материала, формирование выводов, и доработка текста.

**Р.З. Хамидуллина:** помощь в доработке текста.

**С.В. Иванова:** анализ результатов исследований.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все вторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.*

*About the authors:*

**Vitaly V. Evstifeev**, Dr.Sci (Biology), Professor, Chief Research Associate of the Laboratory of Chlamydia Infections, Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety” (FSBSI “FCTRBS-ARRVI”) (2, Nauchny Gorodok, Kazan, Republic of Tatarstan, 420075, Russian Federation); Professor of the Microbiology, Virology, and Immunology Department, Institute “Kazan Academy of Veterinary Medicine Named after N. E. Bauman” of Kazan State Agrarian University, (35, Sibirsky Tract Str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420029, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [ResearcherID](#), [vit.evstifeev@yandex.ru](mailto:vit.evstifeev@yandex.ru)

**Ilgizar R. Akbashev**, Cand.Sci (Veterinary Sciences), Research Associate of the Laboratory of Chlamydia Infections, Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety” (FSBSI “FCTRBS-ARRVI”) (2, Nauchny Gorodok, Kazan, Republic of Tatarstan, 420075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [akbashev92@mail.ru](mailto:akbashev92@mail.ru)

**Fidail M. Khusainov**, Dr.Sci (Veterinary Sciences), Associate Professor, Leading Research Associate of the Laboratory of Chlamydia Infections, Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety” (FSBSI “FCTRBS-ARRVI”) (2, Nauchny Gorodok, Kazan, Republic of Tatarstan, 420075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [fidail63@mail.ru](mailto:fidail63@mail.ru)

**Sergey I. Yakovlev**, Cand.Sci (Veterinary Sciences), Research Associate of the Laboratory of Chlamydia Infections, Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety” (FSBSI “FCTRBS-ARRVI”) (2, Nauchny Gorodok, Kazan, Republic of Tatarstan, 420075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [arena176@rambler.ru](mailto:arena176@rambler.ru)

**Razina Z. Khamidullina**, Junior Research Associate of the Laboratory of Chlamydia Infections, Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety” (FSBSI “FCTRBS-ARRVI”) (2, Nauchny Gorodok, Kazan, Republic of Tatarstan, 420075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [Hamidul1@mail.ru](mailto:Hamidul1@mail.ru)

**Svetlana V. Ivanova**, Cand.Sci. (Veterinary Sciences), Leading Research Associate of the Laboratory of Chlamydia Infections, Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety” (FSBSI “FCTRBS-ARRVI”) (2, Nauchny Gorodok, Kazan, Republic of Tatarstan, 420075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), [ScopusID](#), [9274281396@mail.ru](mailto:9274281396@mail.ru)

***Claimed Contributorship:***

**VV Evstifeev:** scientific supervision, formulating the main concept, research objectives.

**IR Akbashev:** collecting and processing the material, preparing the text.

**FM Khusainov:** analysing research results, formulating conclusions, preparing and refining the text.

**SI Yakovlev:** collecting and processing the material, formulating conclusions and refining the text.

**RZ Khamidullina:** assistance in refining the text.

**SV Ivanova:** analysing research results.

***Conflict of Interest Statement:*** the authors declare no conflict of interest.

***All authors have read and approved the final manuscript.***

**Поступила в редакцию / Received** 04.08.2025

**Поступила после рецензирования / Reviewed** 29.08.2025

**Принята к публикации / Accepted** 03.09.2025