

Salaam, Tanzania. *BMC Infectious Diseases*, 7, 92. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-92>.

5. Bélanger, L., Garenaux, A., Harel, J., et al. (2011). *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 62 (1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00797.x>.

6. Skosyrskikh, L.N. Printsipy profilaktirovaniia antibiotikorezistentnosti pri lechenii urologicheskogo sindroma koshek / L.N. Skosyrskikh, A.S. Chirkova // *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2023. – No. 4 (68). – S. 118-125.

7. Weese, J. S., Blondeau, J., Boothe, D., et al. (2019). International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 247, 8–25. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.02.008>.

8. Chirkova, A.S. Antibakterialnaia terapiia pri patologii pochek melkikh domashnikh zhivotnykh / A.S. Chirkova, K.A. Sidorova, L.N. Skosyrskikh, M.V. Shchipakin // *Normativno-pravovoe regulirovanie v veterinarii*. – 2024. – No. 1. – S. 54-58.

9. Kranz, J., Bartoletti, R., Bruyère, F., et al. (2024). European Association of Urology Guidelines on Urological Infections: Summary of the 2024 Guidelines. *European Urology*, 86 (1), 27–41. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2024.03.035>.

10. Clare, S., Hartmann, F. A., Jooss, M., et al. (2014). Short- and long-term cure rates of short-duration trimethoprim-sulfamethoxazole treatment in female dogs with uncomplicated bacterial cystitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28 (3), 818–826. <https://doi.org/10.1111/jvim.12324>.



УДК 619:576.852.11:575.117.2

К.В. Ан, А.С. Кильп, Т.Е. Миронова, В.Н. Афонюшкин

DOI: 10.53083/1996-4277-2025-244-2-56-62 К.В. Ан, А.С. Кильп, Т.Е. Миронова, В.Н. Афонюшкин

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У *MUS MUSCULUS* ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ *BACILLUS HALOTOLERANS* И *BACILLUS SUBTILIS*

STUDY OF IMMUNE RESPONSES IN *MUS MUSCULUS* AFTER ORAL ADMINISTRATION OF *BACILLUS HALOTOLERANS* AND *BACILLUS SUBTILIS*

Ключевые слова: *B. halotolerans*, *B. subtilis*, экспрессия генов, *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1*, кишечные ворсинки, *Mus musculus*.

В последние годы увеличился интерес к разработке вакцинных платформ, способных быстро адаптироваться для борьбы с различными вирусами. В связи с этим возникает перспектива разработки рекомбинантной оральной вакцины на основе энтероинвазивных бактерий рода *Bacillus* для контроля инфекционных болезней в сельском хозяйстве. Микроорганизм *Bacillus halotolerans*, способный противостоять экстремальным условиям окружающей среды и обладающий антагонистической активностью, может также стать перспективным биологическим агентом в сельском хозяйстве. Изучение влияния энтероинвазивных штаммов на индукцию провоспалительных сдвигов картины крови и в стенке среднего отдела тонкой кишки (*Intestinum jejunum*) у лабораторных животных проводили на мышах линии ICR (CD-1). Для оценки иммунологических реакций изучали экспрессию генов, участвующих в формировании воспалительного иммунного ответа,

таких как *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1* в образцах тощей кишки, селезенки и легких методом ПЦР. В наших работах ранее *B. halotolerans* характеризовался инвазивностью и выделялся из печени при пероральном введении, а также стимулировал образование антител на свои аутоантигены. Показано, что *B. halotolerans* при пероральном введении мышам вида *Mus musculus* приводил к значительному укорочению ворсинок тощей кишки, что указывает на наличие провоспалительных реакций в кишечнике. При этом он не оказывал влияния на глубину кишечных крипт и не вызывал изменений в составе крови. Отсутствие провоспалительной реакции статистически значимо не коррелировало с повышенной экспрессией генов *Vegf-A*, *Foxp3* и *Tgf-β1* в стенке кишечника.

Keywords: *B. halotolerans*, *B. subtilis*, gene expression, *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1*, intestinal villi, *Mus musculus*.

In recent years, there has been increased interest in developing vaccine platforms that may be quickly adapted to combat various viruses. In this regard, there is a pro-

spect of developing a recombinant oral vaccine based on enteroinvasive bacteria of the genus *Bacillus* for the control of infectious diseases in farming. The microorganism *Bacillus halotolerans* which is able to withstand extreme environmental conditions and has antagonistic activity may also become a promising biological agent. The effect of enteroinvasive strains on the induction of proinflammatory shifts in the blood picture and in the wall of the middle section of the small intestine (*Intestinum jejunum*) in laboratory animals was studied on ICR (CD-1) mice. To evaluate immunological responses, the expression of genes involved in the formation of an inflammatory immune response such as Vegf-A, Foxp3, Tgf- β 1 in samples of the jejunum, spleen

and lungs was studied by PCR. In our previous studies, *B. halotolerans* was characterized by invasiveness and was isolated from the liver upon oral administration, and also stimulated the formation of antibodies to its autoantigens. In this study, we showed that *B. halotolerans*, when administered orally to mice of the *Mus musculus* species, led to a significant shortening of the jejunal villi, indicating the presence of proinflammatory reactions in the intestine. However, it did not affect the depth of intestinal crypts and did not cause changes in blood composition. The absence of a proinflammatory response did not statistically significantly correlate with increased expression of the Vegf-A, Foxp3, and Tgf- β 1 genes in the intestinal wall.

Ан Ксения Владимировна, мл. научн. сотр., ИЭВ-СиДВ, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская обл., Российская Федерация, e-mail: anks22@mail.ru.

Кильп Анна Сергеевна, руководитель, Центр ВИБ, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: bobikova.anna97@gmail.com

Миронова Татьяна Евгеньевна, науч. сотр., Центр ВИБ, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: mironova.tanya1994@mail.ru.

Афонюшкин Василий Николаевич, к.б.н., зав. сектором молекулярной биологии, ИЭВСиДВ, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, р.п. Краснообск, Новосибирская обл., Российская Федерация, e-mail: lisocim@mail.ru.

An Kseniya Vladimirovna, Junior Researcher, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: anks22@mail.ru.

Kilp Anna Sergeevna, Head, Center of Veterinary Research and Biology, Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: bobikova.anna97@gmail.com

Mironova Tatyana Evgenevna, Researcher, Center of Veterinary Research and Biology, Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: mironova.tanya1994@mail.ru

Afonyushkin Vasily Nikolaevich, Cand. Bio. Sci., Head of Molecular Biology Sector, Siberian Federal Scientific Center of Agro-Biotechnologies of Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russian Federation, e-mail: lisocim@mail.ru.

Введение

В последние годы пандемия COVID-19 обратила внимание на вирусные заболевания и производство вакцин. В связи с возрастающим спросом возникает необходимость в создании и оптимизации вакцинных платформ – технологий, которые могли бы быть быстро адаптированы для борьбы с возникающим заболеванием с минимальными изменениями в производственном процессе [1]. Сейчас все большее внимание уделяется разработке субъединичных вакцин на основе определенных, отдельно взятых антигенов, поэтому нам кажется перспективной разработка рекомбинантной оральной вакцины на основе энтероинвазивных бактерий рода *Bacillus* и ее дальнейшее применение для контроля различных инфекционных болезней в сельском хозяйстве [2, 3]. В настоящее время препараты на основе бактерий применяются для сокращения падежа молодняка, а также для усвоения кормов и повышения привесов [4]. Кроме того, вакцины, вводимые через слизистую оболочку, имеют ряд потенциальных преимуществ перед инъекцион-

ными вакцинами: отсутствует риск заболеваний, передаваемых через кровь, и необходимость в обученном персонале для введения препарата [5].

На данный момент мезофильный штамм *Bacillus subtilis* является хорошо изученным представителем своего рода и общепризнан безопасным для здоровья организма-хозяина [6-8], однако практическое применение может найти и тесно связанный с ним штамм *Bacillus halotolerans*. Микроорганизм относится к экстремофилам и поэтому отличается способностью противостоять суровым условиям окружающей среды, характеризуется отсутствием факторов патогенности [14], а также обладает высокой антагонистической активностью, что потенциально позволяет использовать его в качестве перспективного биологического агента в сельском хозяйстве [9]. Бактерия выживает в неблагоприятных условиях за счет споруляции, которая активируется при нехватке питательных веществ [10], а образующиеся споры, вероятно,

способны стабилизировать вакцины при транспортировке или неблагоприятном хранении [11].

Цель исследования – изучить иммунологические реакции *Mus musculus* при пероральном введении энтероинвазивного штамма *B. halotolerans*, выделенного из почвы Алтайского края, в сравнении с *B. subtilis*.

Материалы и методы

Используемые штаммы микроорганизмов рода *Bacillus* были представлены коллекцией культур лаборатории фармакогеномики ИХБФМ СО РАН и ООО «СибАФ». Идентификацию культур проводили методом секвенирования по Сенгеру гена 16S рибосомальной РНК.

Изучение влияния энтероинвазивных штаммов на индукцию провоспалительных сдвигов картины крови и в стенке среднего отдела тонкой кишки (*Intestinum jejunum*) у лабораторных животных проводили на мышах линии ICR (CD-1), которых делили на одну опытную группу и одну контрольную, по 8 особей в каждой. Опытной группе первые двое суток выпаивали 100 мкл суспензии бактерий, относящихся к штамму *B. halotolerans*. На 6-й и 7-й дни эксперимента повторяли выпаивание, на 8-й день выводили животных из эксперимента. Кровь анализировали с помощью гематологического анализатора Mindray (Китай).

Работа с лабораторными животными была осуществлена согласно руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.). Исследования проводились в виварии Сибирского Федерального научного центра агробιοтехнологий Российской академии

наук (СФНЦА РАН). Научный коллектив следовал всем рекомендациям в рамках темы исследования. По окончании опытов животных подвергали эвтаназии в соответствии с протоколом № 15-065-А, утвержденным Институциональным комитетом по уходу и использованию животных (OLAW № D16-00214).

Для морфометрического анализа высоты кишечных ворсинок и глубины крипт кусочки тощей кишки фиксировали в 10%-ном забуференном формалине. Проводили диффузионный люминесцентно-микроскопический анализ DLMA. Кусочки кишечника разрезали на ровные пластины и в течение 10 мин. окрашивали Hoechst 33258 и 0,001%-ным раствором эозина К, промывали в 20-кратном объеме дистиллированной воды и проводили люминесцентную микроскопию тонкого окрашенного слоя клеток на поверхности слизистой с использованием люминесцентного микроскопа Imager D1 («Zeiss», Германия) и ПО AxioVision («Zeiss», Германия).

Для оценки иммунологических реакций изучали экспрессию генов, участвующих в формировании воспалительного иммунного ответа, таких как *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1* в образцах тощей кишки, селезенки и легких у животных опытной группы методом количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием подобранных олигонуклеотидных праймеров (табл. 2). РНК выделяли с использованием реагента «Лира» («Биолабмикс», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. После чего проводили ОТ-ПЦР с использованием общепринятых методик на амплификаторе «Bio-Rad Real-time CFX96 Touch» («BioRad», США). Для нормализации количественных данных использовали ген домашнего хозяйства глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (*GAPDH*).

Таблица 1

Штаммы микроорганизмов, используемые в экспериментах

Наименование вида	№ штамма	Нуклеотидная последовательность 16 S рибосомальной РНК, GenBank ID	Источник и дата изоляции
<i>B. subtilis</i>	2.1	OR668699	19.05.2022, печень мыши
<i>B. halotolerans</i>	5.6	OR668701	27.10.2021, сухая почва Алтая
<i>B. subtilis</i>	3.1П	OR668695	19.05.2022, печень мыши
<i>B. subtilis</i>	19	OR668697	20.10.2011, штамм продуцент протеаз (растительная биомасса)

Таблица 2

Характеристика нуклеотидных структур олигонуклеотидных праймеров

Наименование гена	Нуклеотидные последовательности праймеров	Tm, °C
Tgf-β1	U 5'- CAAGGGCTACCATGCCAACT-3'	61,6
	R 5'- GTACTGTGTGTCCAGGCTCCAA-3'	
Vegf-A	U 5'-AAAGGCTTCAGTGTGGTCTGAGAG-3'	58,7
	R 5'-GGTTGGAACCGGCATCTTTATC-3'	
Foxp3	U 5'-ATGGAGAAGCTGGGAGCTATGC-3'	61,6
	R 5'-ATGGTACTGGTGGCTACGATGC-3'	
GAPDH	U 5'-TAGGCATGGACTGTGGGCATGA-3'	64
	R 5'-TATTCACCACCATGGAGAAGGC-3'	

Данные обрабатывали методами вариационной и непараметрической статистики при использовании ПО GraphPad Prism 10. Нормальность распределения оценивали по методу Шапиро-Уилка, статистическую значимость различий – с использованием t-критерия Стьюдента или по методу Манна-Уитни при заданных уровнях значимости $p < 0,05$ и $p < 0,01$.

Результаты и обсуждение

Пробиотические штаммы микроорганизмов стимулируют защитные функции слизистой оболочки кишечника, запуская процессы выработки цитокинов, усиления IgA-секреции, активации фагоцитарных механизмов и синтеза соедине-

ний, ингибирующих факторы бактериальной агрессии. Однако в настоящем эксперименте по результатам непараметрического анализа по Манну-Уитни было отмечено статистически значимое ($p < 0,05$) сокращение длины ворсинок тощей кишки у мышей линии ICR в ответ на пероральное введение опытного штамма *B. halotolerans* № 5.6. При этом не было показано влияния ($p > 0,05$) на глубину кишечных крипт у мышей той же группы (рис. 1).

Кроме того, непараметрический анализ показал, что пероральное введение штамма *B. halotolerans* мышам линии ICR также не оказывало существенного влияния ($p > 0,05$) на их гематологические показатели (рис. 2).

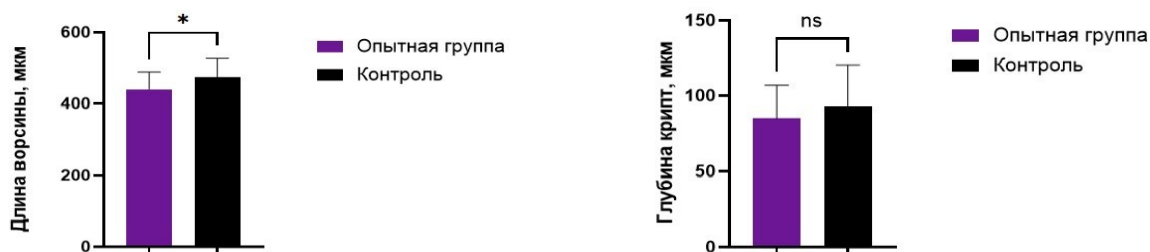


Рис. 1. Длина кишечных ворсинок и глубина крипт *Mus musculus* опытной группы, получавших культуру *B. halotolerans*, и контрольной группы (мкм, Mean±SD)

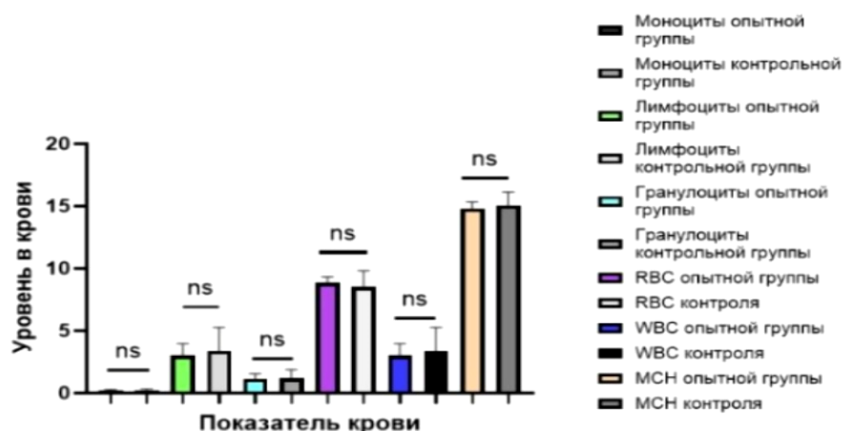


Рис. 2. Показатели крови у мышей ICR опытной группы, получавших культуру *B. halotolerans*, и у мышей контрольной группы (Mean±SD): RBC – число эритроцитов в литре крови; WBC – белые кровяные тельца (лейкоциты); MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците

Согласно рисункам 3-5, наблюдались незначимые сдвиги в экспрессии генов *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1* в легких, кишечнике и селезенке мышей линии ICR, что говорит об отсутствии выраженных эффектов на внутренние органы при пероральном введении как *B. halotolerans*, так и *B. subtilis* ($p > 0,05$). Уровни удельной экспрессии *Tgf-β1* и *Vegf-A* были повышены статистически незначимо у животных, получавших культуру *B. halotolerans* в легких, селезенке и кишечнике (в сравнении с животными остальных групп).

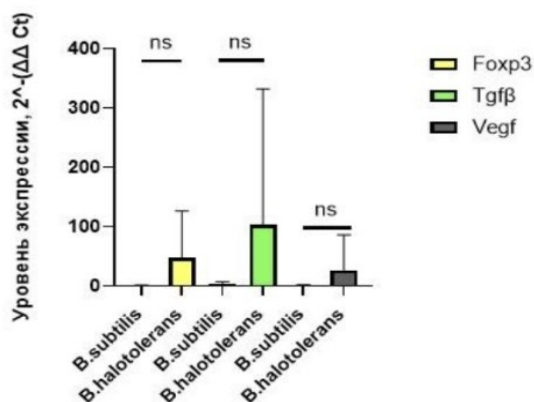


Рис. 3. Уровни экспрессии генов *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1* в кишечнике у мышей ICR ($2^{-\Delta\Delta C_t}$, Mean+SD)

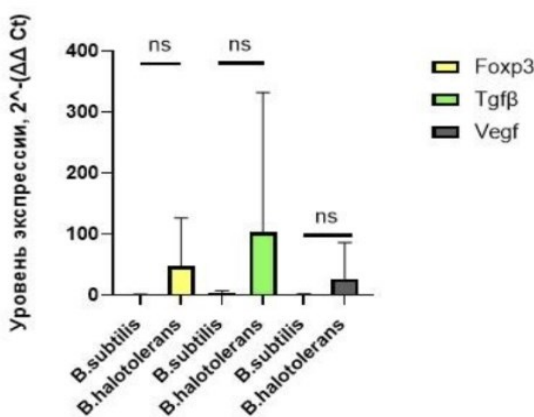


Рис. 4. Уровни экспрессии генов *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1* в легких у мышей ICR ($2^{-\Delta\Delta C_t}$, Mean+SD)

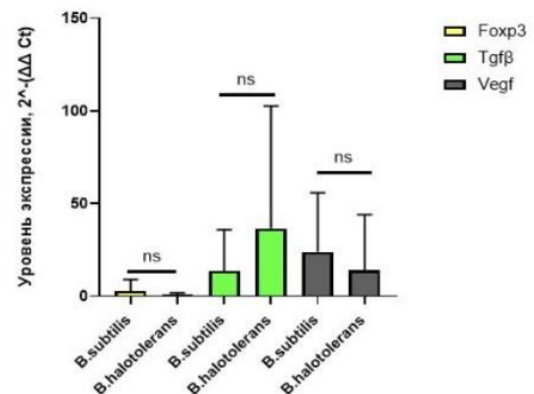


Рис. 5. Уровни экспрессии генов *Vegf-A*, *Foxp3*, *Tgf-β1* в селезенке у мышей ICR ($2^{-\Delta\Delta C_t}$, Mean+SD)

Ранее было показано, что при введении *B. subtilis* происходит стимуляция экспрессии провоспалительных цитокинов [12, 13], поэтому в данном исследовании дополнительно проанализировали экспрессию генов более ассоциированных с паттерном хронических воспалительных эффектов. С одной стороны, *B. halotolerans* характеризовался инвазивностью и выделялся из печени при пероральном введении, а также стимулировал образование антител на свои аутоантигены [14], но при этом не проявлял провоспалительных активностей при анализе крови и экспрессии генов цитокинов (рис. 3-5). Кишечник богат Treg-лимфоцитами и, по нашему мнению, является важнейшим компартментом организма, в котором активны именно эти клетки. В качестве маркера активности Treg клеток мы проанализировали экспрессию *Foxp3*. Следует отметить, что такой анализ скорее отражает количество клеток, умноженное на удельную активность экспрессии *Foxp3* в клетках, и такое утверждение справедливо для большинства маркеров активности иммунной системы ввиду активной миграции, дифференцировки и пролиферации клеток иммунной системы в тканях. *Tgf-β1* также следует рассматривать как маркер, свидетельствующий о противовоспалительной активности. Экспрессию *Vegf-A* изучали по причине того, что объектом многих наших исследований являются бактерии с энтероинвазивной активностью, что подразумевает диссеминацию по тканям и органам, в т.ч. через кровеносную систему. Контакт бактериальных или иммунокомпетентных клеток с эндотелием в процессе миграции в зону инвазии мог бы стимулировать экспрессию этого гена. Отсутствие статистически значимого повышения уровня экспрессии этого гена свидетельствует об отсутствии существенных повреждений эндотелия кровеносных сосудов при инвазии.

Заключение

При изучении иммунологических реакций в данной работе доказано, что *B. halotolerans*, обладающий энтероинвазивными свойствами, при пероральном введении *Mus musculus* приводил к значимому укорочению ворсинок тощей кишки, что свидетельствует о наличии провоспалительных реакций в кишечнике, однако не влиял на глубину кишечных крипт и не вызывал изменений картины крови. Также отсутствие провоспалительной реакции статистически значимо не

ассоциировалось с повышенной экспрессией генов Vegf-A, Foxp3, Tgf-β1 в стенке кишечника.

Библиографический список

1. Annas, S., Zamri-Saad, M. (2021). Intranasal Vaccination Strategy to Control the COVID-19 Pandemic from a Veterinary Medicine Perspective. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11 (7), 1876. <https://doi.org/10.3390/ani11071876>.

2. Использование *Bacillus subtilis* в качестве носителя оральной вакцины против *Streptococcus suis* / В. Н. Афонюшкин, Я. Фуди, Т. Е. Миронova [и др.]. – Текст: непосредственный // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2023. – Т. 52, № 6. – С. 78-84.

3. Поиск В-зависимых эпитопов S белка вируса инфекционного бронхита кур, оптимальных для разработки штамм-специфичных рекомбинантных вакцин / Ф. Ян, А. С. Кильп, Т. Е. Миронova [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова. – 2023. – Т. 19, № 4. – С. 71-78.

4. Семакова, А. П. Адъювантные технологии в создании современных вакцин / А. П. Семакова, Н. И. Микшис. – Текст: непосредственный // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 2. – С. 28-35.

5. De Souza, R. D., Batista, M. T., Luiz, W. B., et al. (2014). *Bacillus subtilis* spores as vaccine adjuvants: further insights into the mechanisms of action. *PloS One*, 9 (1), e87454. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087454>.

6. Пробиотики на основе бактерий рода *Bacillus* в птицеводстве / Н. В. Феоктистова, А. М. Марданова, Г. Ф. Хадиева, М. Р. Шарипова. – Текст: непосредственный // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. – 2017. – Т. 159, № 1. – С. 85-107.

7. Ermakova L P, et al. Effect of various doses of probiotic Vetom 1 comprised of a *Bacillus subtilis* strain on relative weights of some internal organs in Pharaoh quails. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, Vol 10 [4] March 2021: 102-104.

8. Ermolenko, E. I., Desheva, Y. A., Kolobov, et al. (2019). Anti-Influenza Activity of Enterocin B In vitro and Protective Effect of Bacteriocinogenic Enterococcal Probiotic Strain on Influenza Infection in Mouse Model. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11 (2), 705–712. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9457-0>.

9. Wu, C., Ouyang, M., Guo, Q., Jia, J., et al. (2019). Changes in the intestinal microecology induced by *Bacillus subtilis* inhibit the occurrence of ulcerative colitis and associated cancers: a study on the mechanisms. *American Journal of Cancer Research*, 9 (5), 872–886.

10. Elshaghabe, F. M. F., Rokana, N., Gulhane, R. D., et al. (2017). *Bacillus* as Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1490. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490>.

11. Chen, L., Gorman, J. J., McKimm-Breschkin, J., et al. (2001). The structure of the fusion glycoprotein of Newcastle disease virus suggests a novel paradigm for the molecular mechanism of membrane fusion. *Structure (London, England: 1993)*, 9 (3), 255–266. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(01\)00581-0](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(01)00581-0).

12. Zhou, C., Wang, H., Li, X., et al. (2019). Regulatory Effect of *Bacillus subtilis* on Cytokines of Dendritic Cells in Grass Carp (*Ctenopharyngodon Idella*). *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (2), 389. <https://doi.org/10.3390/ijms20020389>.

13. Бактерии *Bacillus subtilis* – продуценты цитокиноподобных веществ / С. А. Лазарев, Е. О. Калиниченко, С. А. Сходова, Н. А. Михайлова. – Текст: непосредственный // Актуальная биотехнология. – 2023. – № 2. – С. 19-20.

14. Иммуногенность и инвазивность микроорганизмов рода *Bacillus* при пероральном применении / Н.А. Донченко, Ю. Н. Козлова, В. Ю. Коптев [и др.]. – Текст: непосредственный // Сельскохозяйственная биология. – 2024. – Т. 59, № 4. – С. 814-825.

References

1. Annas, S., Zamri-Saad, M. (2021). Intranasal Vaccination Strategy to Control the COVID-19 Pandemic from a Veterinary Medicine Perspective. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11 (7), 1876. <https://doi.org/10.3390/ani11071876>.

2. Afoniushkin V.N. i dr. Ispolzovanie *Bacillus subtilis* v kachestve nositelii oralnoi vaksiny protiv *Streptococcus suis* // Sibirskii vestnik selskokhoziaistvennoi nauki. – 2023. – Т. 52. – No. 6. – S. 78-84.

3. Ian F. i dr. Poisk B-zavisimyykh epitopov S belka virusa infektsionnogo bronkhita kur, optimalnykh dlia razrabotki shtamm-spetsifichnykh rekombinantnykh vaksyn // Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoi biologii im. lu.A. Ovchinnikova. – 2023. – Т. 19. – No. 4. – S. 71-78.

4. Semakova A.P., Mikshis N.I. Adieiuvantnye tekhnologii v sozdanii sovremennykh vaktsin // Problemy osobo opasnykh infektsii. – 2016. – No. 2. – S. 28-35.
5. De Souza, R. D., Batista, M. T., Luiz, W. B., et al. (2014). Bacillus subtilis spores as vaccine adjuvants: further insights into the mechanisms of action. *PloS One*, 9 (1), e87454. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087454>.
6. Feoktistova N.V. i dr. Probiotiki na osnove bakterii roda Bacillus v ptitsevodstve // Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya estestvennye nauki. – 2017. – T. 159. – No. 1. – S. 85-107.
7. Ermakova L P, et al. Effect of various doses of probiotic Vetom 1 comprised of a *Bacillus subtilis* strain on relative weights of some internal organs in Pharaon quails. Bull. Env. Pharmacol. Life Sci., Vol 10 [4] March 2021: 102-104.
8. Ermolenko, E. I., Desheva, Y. A., Kolobov, et al. (2019). Anti-Influenza Activity of Enterocin B In vitro and Protective Effect of Bacteriocinogenic Enterococcal Probiotic Strain on Influenza Infection in Mouse Model. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11 (2), 705–712. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9457-0>.
9. Wu, C., Ouyang, M., Guo, Q., Jia, J., et al. (2019). Changes in the intestinal microecology induced by Bacillus subtilis inhibit the occurrence of ulcerative colitis and associated cancers: a study on the mechanisms. *American Journal of Cancer Research*, 9 (5), 872–886.
10. Elshaghabe, F. M. F., Rokana, N., Gulhane, R. D., et al. (2017). *Bacillus* as Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1490. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490>.
11. Chen, L., Gorman, J. J., McKimm-Breschkin, J., et al. (2001). The structure of the fusion glycoprotein of Newcastle disease virus suggests a novel paradigm for the molecular mechanism of membrane fusion. *Structure (London, England: 1993)*, 9 (3), 255–266. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(01\)00581-0](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(01)00581-0).
12. Zhou, C., Wang, H., Li, X., et al. (2019). Regulatory Effect of *Bacillus subtilis* on Cytokines of Dendritic Cells in Grass Carp (*Ctenopharyngodon Idella*). *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (2), 389. <https://doi.org/10.3390/ijms20020389>.
13. Lazarev S.A. i dr. Bakterii Bacillus subtilis – produksenty tsitokinopodobnykh veshchestv // Aktualnaia biotekhnologiya. – 2023. – No. 2. – S. 19-20.
14. Donchenko N.A. i dr. Immunogennost i invazivnost mikroorganizmov roda Bacillus pri peroralnom primenenii // Selskokhoziaistvennaia biologiya. – 2024. – T. 59. – No. 4. – S. 814-825.

Исследования выполнялись в рамках работ по государственному заданию Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (НГАУ № 123121500008-1 и ИХБФМ СО РАН № 121031300043-8).



УДК 636.74.044.7

DOI: 10.53083/1996-4277-2025-244-2-62-66

О.Е. Мальцева, И.Н. Плешакова, Н.Д. Овчаренко

O.E. Maltseva, I.N. Pleshakova, N.D. Ovcharenko

К ВОПРОСУ О МИКРО- И МАКРОСТРУКТУРЕ ШЕРСТИ СОБАК В РАЗНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ

ON THE ISSUE OF MICRO- AND MACROSTRUCTURE OF DOG HAIR AT DIFFERENT AGE PERIODS

Ключевые слова: шерсть, возрастные изменения, волосяной покров, макро- и микроструктура шерсти собак, возрастные особенности шерсти, линька, качество шерсти.

Одна из главных функций волосяного покрова заключается в механической защите кожи и в теплоизоляции, сохраняя тепло и предотвращая переохлаждение. На структуру волосяного покрова оказывают влияние различные факторы внешней и внутренней среды: порода, пол, возраст животных, физиологическое со-

стояние, а также климатические условия, кормление, содержание и другие. Известно, что с возрастом происходят структурные преобразования волосяного покрова, которые выражаются в изменении его строения и свойств, а также плотности, густоты, эластичности, цвета и блеска шерсти. Целью исследования явилось изучение влияния возраста на морфологические особенности микро- и макроструктуры шерсти собак породы немецкой овчарки. Образцы шерсти собирали на холке с помощью щётки с мягкими щетинками в специальный контейнер в зимний период. Состояние шерсти