

Научная статья

УДК 619.576.895.132

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-2-263-271>

Выявление генотипа паразитических нематод *Teladorsagia circumcincta*, резистентного к антигельминтным препаратам бензимидазольного ряда

Пименов Илья Александрович¹, Одоевская Ирина Михайловна²

^{1,2} 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» (ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Москва, Россия

¹ Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы (РУДН), Москва, Россия

¹ pimenov@vniigis.ru, <https://orcid.org/0009-0001-8712-6073>

² odoevskaya@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3644-5592>

Аннотация

Цель исследований – выявление резистентных к антигельминтным препаратам бензимидазольного ряда штаммов паразитических нематод *Teladorsagia circumcincta* молекулярно-генетическими методами.

Материалы и методы. Животные: овцы породы «Южная мясная» возрастом от 8 до 12 мес. Паразитические нематоды сем. Trichostrongylidae были получены из сычугов овец. Самцов и самок нематод сохраняли в отдельных промаркированных пробирках типа «Эппендорф» при -20 °С. **Молекулярно-генетические исследования.** Выделение нативной геномной ДНК проводили с использованием коммерческого набора для экстракции ДНК из микроколичеств тканей «ДНК-Экстран-2» («Синтол», Москва). **Проведение «вложенной ПЦР».** Для амплификации ДНК использовали термоциклер T-100 Bio-Rad и коммерческий набор реактивов Master Mix, Евроген. Полученные фрагменты ДНК использовали в качестве основного компонента для проведения реакции рестрикции с эндонуклеазой RsaI («Сибэнзим», г. Новосибирск). **Выявление резистентного генотипа *T. circumcincta* методом ПЦР.** Мультиплексную ПЦР проводили в соответствии с рекомендациями Silvestre et al, 2000 с использованием коммерческого набора реактивов Master Mix, Евроген. Результаты электрофореза анализировали в гель-документирующей системе GelDoc, Bio-Rad. Секвенирование полученных фрагментов проводили в компании ЦКП «Геном» ФГБНУ «МГНЦ» (Москва).

Результаты и обсуждение. Для выявления мутаций в гене β-тубулина, приводящих к формированию резистентности у паразитических нематод вида *T. circumcincta* к антигельминтным препаратам бензимидазольного ряда, были проведены молекулярно-генетические исследования с использованием методов «вложенной» ПЦР, анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и «мультиплексной» ПЦР. Результаты наличия нуклеотидных замен в гене β-тубулина были подтверждены секвенированием по Сэнгеру.

Ключевые слова: резистентность, нематоды пищеварительного тракта, Trichostrongylidae, *Teladorsagia circumcincta*, «вложенная» ПЦР, ПЦР-ПДРФ, рестриктаза, мелкий рогатый скот

Благодарность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Гранта РНФ №23-26-00220.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Пименов И. А., Одоевская И. М. Выявление генотипа паразитических нематод *Teladorsagia circumcincta*, резистентного к антигельминтным препаратам бензимидазольного ряда // Российский паразитологический журнал. 2025. Т. 19. № 2. С. 263–271.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-2-263-271>

© Пименов И. А., Одоевская И. М., 2025



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Identifying the genotype of parasitic nematodes *Teladorsagia circumcincta* resistant to benzimidazole anthelmintics

Iliya A. Pimenov¹, Irina M. Odoevskaya²

^{1,2} All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia

¹ Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University), Moscow, Russia

¹ pimenov@vniigis.ru, <https://orcid.org/0009-0001-8712-6073>

² odoevskaya@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3644-5592>

Abstract

The purpose of the research is to identify strains of parasitic nematodes *Teladorsagia circumcincta* resistant to benzimidazole anthelmintics using molecular genetic methods.

Materials and methods. Animals: The Southern sheep aged 8 to 12 months. Parasitic nematodes of the family Trichostrongylidae were isolated from sheep abomasums. Male and female nematodes were preserved in separate labeled Eppendorf tubes at -20°C. *Molecular genetic testing.* Native genomic DNA was isolated using a commercial kit DNA-Extran-2 (Synthol, Moscow) for DNA extraction from microgram quantities of tissues. *Nested PCR.* For DNA amplification, a T-100 Bio-Rad thermal cycler and a commercial Master Mix reagent kit, Evrogen, were used. The resulting DNA fragments were used as the main component for a restriction reaction with RsaI endonuclease (SibEnzyme, Novosibirsk). *PCR-based detecting the resistant genotype of T. circumcincta.* Multiplex-PCR was performed as recommended by Silvestre et al., 2000, using a commercial Master Mix reagent kit, Evrogen. The electrophoresis results were analyzed in the GelDoc gel-documenting system, Bio-Rad. The obtained fragments were sequenced at the Genome Collective Use Center of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics" (Moscow).

Results and discussion. To identify β -tubulin gene mutations that lead to benzimidazole anthelmintic resistance in parasitic nematodes of the species *T. circumcincta*, molecular genetic testing was conducted using nested PCR, restriction fragment length polymorphism analysis, and multiplex-PCR methods. The results of the presence of nucleotide substitutions in the β -tubulin gene were confirmed by Sanger sequencing.

Keywords: resistance, gastrointestinal nematodes, Trichostrongylidae, *Teladorsagia circumcincta*, nested PCR, PCR-RFLP, restriction enzyme, small cattle.

Acknowledgments. The study was financially supported by the Russian Science Foundation Grant No. 23-26-00220.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

For citation: Pimenov I. A., Odoevskaya I. M. Identifying the genotype of parasitic nematodes *Teladorsagia circumcincta* resistant to benzimidazole anthelmintics. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2025;19(2):263–271. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2025-19-2-263-271>

© Pimenov I. A., Odoevskaya I. M., 2025

Введение

Основным направлением животноводческой отрасли сельского хозяйства сегодня является производство качественной и безопасной продукции, свободной от паразитарных инфекций. Для достижения данной цели антигельминтные препараты использу-

ют повсеместно: от крупных агрохолдингов до личных подсобных хозяйств. Длительное и систематическое использование антигельминтиков приводит к формированию у паразитов устойчивости к препаратам бензимидазольного класса, что, в свою очередь, приводит к значительным экономическим потерям [4, 6, 7, 10, 11, 13].

На сегодняшний день во многих странах подтверждено наличие резистентности к антигельминтным препаратам бензимидазольного ряда у паразитических нематод желудочно-кишечного тракта [2, 3, 5, 8, 9].

В России препараты данного класса применяют уже на протяжении длительного времени, поэтому целью исследования стало выявление резистентного генотипа у нематод вида *Teladorsagia circumcincta*, выделенных из ЖКТ мелкого рогатого скота.

Материалы и методы

Животные. Для проведения гельминтологических исследований было отобрано 10 овец методом свободной выборки из одной партии (50 голов) породы «Южная мясная» в возрасте от 8 до 12 мес., поступившей на убойный пункт в Московской области из фермерского хозяйства, расположенного на территории Ставропольского края. Вскрытие сычугов и фрагментов тонкого кишечника проводили в лаборатории иммунологии и молекулярных исследований ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Паразитические нематоды. Для исследований использовали взрослых самцов и самок нематод сем. Trichostrongylidae. Каждую нематоду сохраняли в отдельной промаркированной пробирке типа «Эппендорф» при -20°С вплоть до начала проведения молекулярно-генетических исследований.

Молекулярно-генетические исследования

Выделение нативной геномной ДНК проводили с использованием коммерческого набора для экстракции ДНК из микроколичеств тканей "ДНК-Экстран-2" («Синтол», Москва) согласно рекомендациям производителя. Аликвоты геномной ДНК сохраняли вплоть до использования при -20°С.

Проведение «вложенной» ПЦР. Для амплификации ДНК использовали термоциклер T-100 Bio-Rad и коммерческий набор реактивов Master Mix, Евроген. Режим проведения ПЦР, используемые реактивы и расчёт конечной концентрации реагентов в реакционной смеси для амплификации фрагмента ДНК осуществляли согласно руководству WAAVP [4]. На первом этапе ПЦР использовали праймеры Pn1 – Pn2. Полученный продукт использовали в качестве матрицы для проведения второго этапа «вложенной» ПЦР с праймерами Pn3 – Pn4 [1, 2].

Режим проведения «вложенной» ПЦР: 94°С – 2 мин; 20 циклов: 94°С – 55 с, отжиг при 57°С – 55 с, 72°С – 55 с; заключительный этап 72°С – 10 мин; сохранение продукта при 12°С. Количество амплифицированного фрагмента ДНК в пробах анализировали с помощью прибора Fluorometer Qubit 3.0, Invitrogen.

Полученный фрагмент ДНК (ампликон) использовали в качестве основного компонента для проведения реакции с эндонуклеазой RsaI («Сибэнзим», г. Новосибирск) и последующей диагностики выявления резистентного генотипа методом мультиплексной ПЦР.

Определение вида с использованием эндонуклеазы RsaI. Протокол проведения реакции рестрикции с эндонуклеазой RsaI: 10 мкл амплифицированного продукта «вложенной» ПЦР (25–30 пмол.), эндонуклеаза RsaI – 40 ед., RsaI – буфер-2 мкл. Инкубация в течение 1,5 ч при 37°С.

Выявление резистентного генотипа *T. circumcincta* методом ПЦР. Мультиплексную ПЦР проводили в соответствии с рекомендациями Silvestre et al. [11], используя специфичные для нематод вида *T. circumcincta* праймеры, позволяющие определять гомо- и гетерозиготные аллели гена β -тубулина. Для амплификации ДНК использовали термоциклер T-100 Bio-Rad и коммерческий набор реактивов Master Mix, Евроген. Режим проведения ПЦР: 94°С – 2 мин; 33 цикла: 94°С – 55 с, отжиг при 57°С – 55 с, 72°С – 55 с; заключительный этап 72°С – 10 мин; сохранение продукта – при 12°С.

Анализ всех продуктов проводили в 2,5%-ном агарозном геле в ТВЕ буфере, окрашенном бромистым этидием при УФ-излучении в геледокументирующей системе GelDoc, Bio-Rad.

Очистку полученных фрагментов ДНК проводили с использованием набора Cleanup Mini («Евроген», Москва), секвенирование полученных фрагментов – в компании ЦКП «Геном» ФГБНУ «МГНЦ» (Москва).

Результаты и обсуждение

Вскрытие сычугов и тонких отделов кишечника овец из Ставропольского края показало, что животные были инвазированы паразитическими нематодами сем. Trichostrongylidae. Методом световой микроскопии по морфологическим критериям Van Wyk J. A. & Mayhew E. [12] было установлено, что данная популя-

ция гельминтов представлена тремя видами *Marshallagia marshalli*, *Haemonchus contortus* и *Teladorsagia circumcincta*. Нематоды вида *M. marshalli* были обнаружены только в 7 пробах желудочно-кишечных трактов, тогда как нематоды видов *H. contortus* и *T. circumcincta* – во всех исследуемых образцах. Наибольшие показатели интенсивности инвазии (ИИ) были отмечены у *T. circumcincta* – 132 экз./гол., наименьшие показатели – у *M. marshalli* – 11 экз./гол.

Согласно ветеринарным сопроводительным документам, в данном хозяйстве регулярно проводили дегельминтизацию овец альбендазолом. Обнаруженные в ходе посмертных исследований паразитические нематоды в сычугах и в отделах тонкого кишечника овец дают повод предположить наличие в популяции гельминтов резистентных штаммов сем. *Trichostrongylidae*.



Рис. 1. *Marshallagia marshalli*

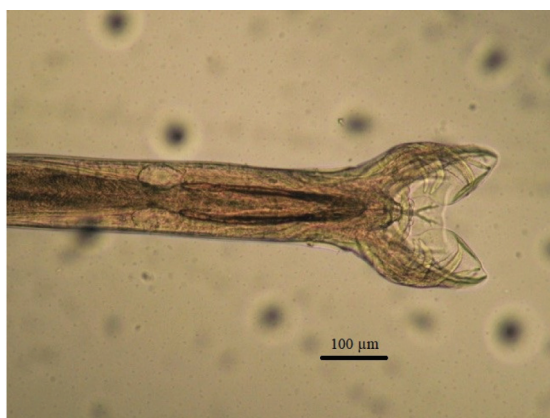


Рис. 2. *Teladorsagia circumcincta*

Для выявления резистентного генотипа было выбрано 30 самцов и самок гельминтов вида *T. circumcincta*, поскольку данный вид являлся доминирующим в популяции желудочно-кишечных нематод овец.

Проведение молекулярно-генетических исследований с использованием видоспецифических праймеров невозможно без достоверного определения вида исследуемых нематод, поэтому для подтверждения полученных ранее морфологических данных о видовой принадлежности самцов и определения таксономической характеристики самок, был проведен анализ методом «вложенной» ПЦР с последующей оценкой полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Методика «вложенной» ПЦР была выбрана для обеспечения повышения чувствительности и специфичности изотермических реакций. На первом этапе ПЦР использовали аликваты геномной ДНК *T. circumcincta* и праймеры, амплифицирующие фрагмент гена β -тубулина трихостронгилид. На втором этапе «вложенной» ПЦР в качестве матрицы использовали ампликон, полученный в результате проведения первого этапа.

Полученный ампликон подвергали расщеплению эндонуклеазой *RsaI* по сайту узнавания GT↓AC (CA↑TG) [11]. В результате была получена рестрикционная карта с фрагментами рестрикции, характерными для: *T. circumcincta* – расщепление ампликона на три части размером 284, 182, 131 н.п. и *H. contortus* – расщепление ампликона на две части размером 480 и 291 н.п. (рис. 3)

Для выявления наличия однонуклеотидных замен в гене β -тубулина у нематод сем. *Trichostrongylidae*, обуславливающих формирование резистентности к препаратам бензимидазольного ряда, были проведены серии ПЦР с использованием праймеров, специфичных для нематод вида *T. circumcincta*:

два прямых:

Pt1: 5' gTACAgAgCTTCATTATCgATgCAGa 3';

Pt3: 5' TTggTAGAAAACACCgATgAAACATA 3';

и два обратных:

Pt2: 5' gATCAGCATTCAGCTgTCCA 3';

Pt4: 5' gTACAgAgCTTCATTATCgATgCAGa 3'.

Различные комбинации данных праймеров позволяют определять гомо- и гетеро-

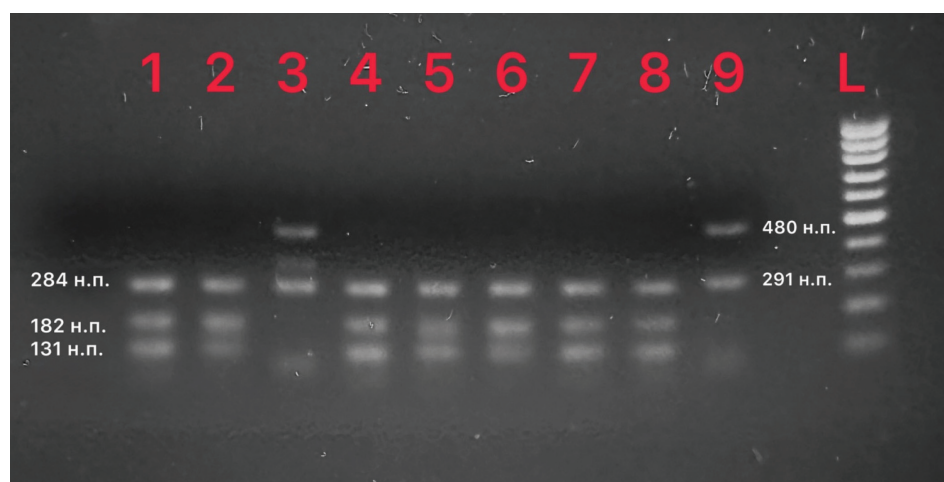


Рис. 3. Рестрикционная карта расщепления ампликонов ДНК эндонуклеазой RsaI в 2,5%-ном агарозном геле

(треки № 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8 – фрагменты рестрикции, характерные для вида *T. circumcincta*;
треки № 3, 9 – фрагменты рестрикции, характерные для вида *H. contortus*;
трек «L» – DNA ladder, шаг 100 bhp)

Fig. 3. Restriction map of DNA amplicons digested with RsaI endonuclease in 2.5% agarose gel

(tracks No. 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8 – restriction fragments characteristic of the species *T. circumcincta*;
tracks No. 3, 9 – restriction fragments characteristic of the species *H. contortus*;
track "L" – DNA ladder, step 100 bhp)

зиготные генотипы по доминантному (восприимчивые) и рецессивному (устойчивые) признаку. Это достигается за счет того, что нуклеотидная замена обуславливает гомологию олигонуклеотидов праймера с матричной ДНК в сайтах АТА/ТСТ, что, в свою очередь, позволяет диагностировать мутацию в кодоне гена β -тубулина.

В ходе проведения ПЦР использовали такие комбинации праймеров, как Pt1+Pt2; Pt1+Pt2+Pt3; Pt1+Pt2+Pt4 для определения диагностической эффективности праймеров, для определения рецессивных аллелей и для определения доминантных аллелей у *T. circumcincta* соответственно. Анализ полученных данных показал, что в исследуемой нами популяции нематод вида *T. circumcincta* у овец из Ставропольского края присутствуют только гетерозиготные и гомозиготные (по рецессивному признаку) особи (рис. 4). На треках № 1–3 приведены ампликоны, характерные для нематоды с гетерозиготным генотипом, поскольку были амплифицированы фрагменты ДНК, несущие как доминантную (трек № 2, фрагмент размером 550 н.п.), так и рецессивную (трек № 3, фрагмент размером 200 н.п.) аллель гена β -тубулина. На треках

№ 4–6 можно увидеть иную картину: здесь представлена гомозиготная по рецессивному признаку особь, поскольку произошла амплификация фрагмента ДНК, определяющая только рецессивную аллель гена β -тубулина (трек № 6). Данные результаты подтверждают ранее выдвинутое предположение о формировании резистентности у паразитических нематод желудочно-кишечного тракта в исследуемом хозяйстве.

Результаты выявления резистентного гомозиготного генотипа нематод вида *T. circumcincta* были подтверждены секвенированием по Сэнгеру в ЦКП «Геном». Для этого использовали фрагменты ДНК, амплифицированные праймерами Pt1+Pt2 для исключения ошибок прочтения, характерных для начальных и конечных участков сиквенса. Продукт очищали набором Cleanup Mini («Евроген»). Результаты секвенирования были обработаны в программе «Chromas» (рис. 5)

На полученной хроматограмме видно, что 557-й нуклеотид заменен с тимина на аденин. Данная мутация в кодоне гена β -тубулина нематод является одной из причин формирования резистентности к препаратам бензимидазольного ряда [4, 14]. Отсутствие «двойного

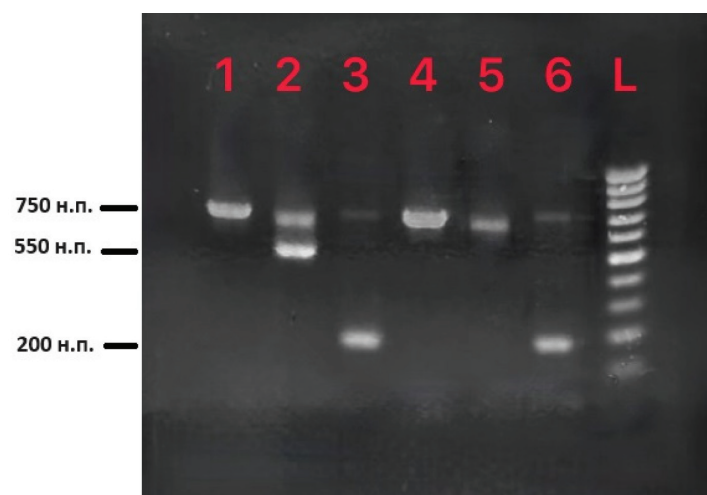


Рис. 4. Визуализация результатов ПЦР с использованием комбинации специфических праймеров, выявляющих нуклеотидную замену в кодоне гена β -тубулина у *T. circumcincta* в 2,5%-ном агарозном геле

(треки № 1–3 – *T. circumcincta* с гетерозиготным генотипом; треки №4–6 – *T. circumcincta* с гомозиготным по рецессивному признаку генотипом; трек № 1 – фрагмент ДНК размером 750 н.п., амплифицированный для определения диагностической эффективности праймеров у гетерозиготной особи; трек № 2 – амплифицированный фрагмент ДНК размером 550 н.п. доминантной аллели гена у гетерозиготной особи; трек № 3 – амплифицированный фрагмент ДНК размером 200 н.п. рецессивной аллели гена у гетерозиготной особи; трек № 4 – фрагмент ДНК размером 750 н.п., амплифицированный для определения диагностической эффективности праймеров у гомозиготной особи; трек № 5 – отсутствие доминантной аллели гена у гомозиготной по рецессивному признаку особи; трек № 6 – амплифицированный фрагмент ДНК размером 200 н.п. рецессивной аллели гена у гомозиготной особи; трек «L» – DNA ladder, шаг 100 bp)

Fig. 4. Visualization of PCR results using a combination of specific primers detecting a nucleotide substitution in a codon of the β -tubulin gene in *T. circumcincta* in a 2.5% agarose gel

(tracks No. 1–3 – *T. circumcincta* with a heterozygous genotype; tracks No. 4–6 – *T. circumcincta* with a homozygous recessive genotype; track No. 1 – a 750 bp DNA fragment amplified to determine the diagnostic efficiency of primers in a heterozygous individual; track No. 2 – amplified 550 bp DNA fragment of the dominant allele of the gene in a heterozygous individual; track No. 3 – amplified 200 bp DNA fragment of the recessive alleles of the gene in a heterozygous individual; track No. 4 – a 750 bp DNA fragment amplified to determine the diagnostic efficiency of primers in a homozygous individual; track No. 5 – absence of the dominant allele of the gene in an individual homozygous for the recessive trait; track No. 6 – amplified 200 bp DNA fragment of the recessive allele of the gene in a homozygous individual; track "L" – DNA ladder, step 100 bp)

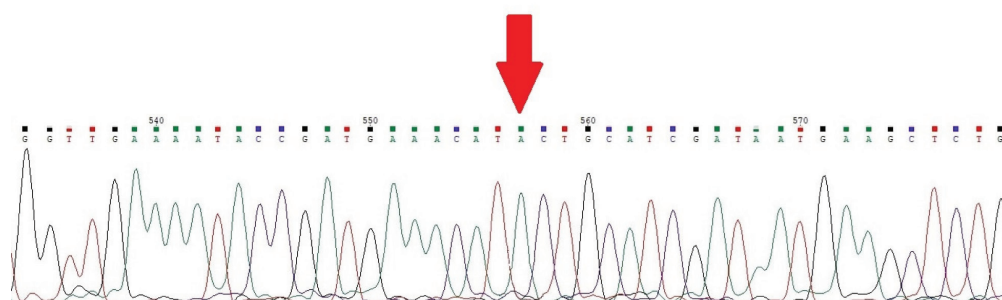


Рис. 5. Хромотограмма фрагмента полученного секвенирования амплифицированной последовательности гена β -тубулина праймерами Pt1+Pt2 у гомозиготной по рецессивному признаку устойчивости к бензимидазолу особи в программе «Chromas»

Fig. 5. Chromatogram of the fragment obtained from sequencing the amplified sequence of the β -tubulin gene with primers Pt1+Pt2 in an individual homozygous for the recessive trait of resistance to benzimidazole in the Chromas program

пики» в указанном месте подтверждает, что исследуемая последовательность получена от гомозиготного генотипа.

Было проведено сравнение полученной нуклеотидной последовательности гена

β -тубулина резистентной нематоды вида *T. circumcincta* с аналогичными последовательностями восприимчивых штаммов нематод, депонированными в открытой базе данных GenBank (рис. 6).

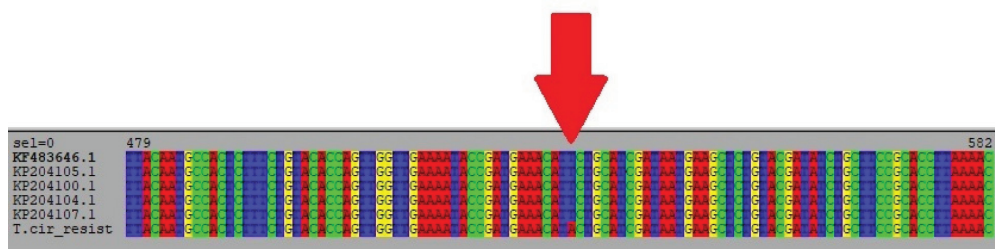


Рис. 6. Сравнение полученной нуклеотидной последовательности гена β -тубулина резистентной нематоды вида *T. circumcincta* с аналогичными последовательностями восприимчивых штаммов нематод, депонированными в открытой базе данных GenBank

Fig. 6. Comparison of the obtained nucleotide sequence of the β -tubulin gene of the resistant nematode species *T. circumcincta* with similar sequences of susceptible nematode strains deposited in the open GenBank database

Заключение

Современное животноводство основано на выпуске доброкачественной продукции, получение которой невозможно без применения лекарственных препаратов. На сегодняшний день использование антигельминтиков установлено на законодательном уровне. Однако, к сожалению, проблема формирования к ним устойчивости паразита не всегда учитывается. Полученные нами данные о выявлении резистентного генотипа паразитических нематод мелкого рогатого скота указывают на необходимость изменения стратегии использования антигельминтных препаратов в хозяйствах.

Список источников

1. Пименов И. А., Одоевская И. М., Плиева А. М., Варламова А. И. Возможности использования «вложенной» ПЦР-ПДРФ для таксономической идентификации личинок L3 семейства Trichostrongylidae, Leiper, 1912 // Российский паразитологический журнал. 2024. Т. 18. № 3. С. 264–273. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-3-264-273>
2. Пименов И. А., Варламова А. И., Афанасьев А. Д., Одоевская И. М. Анализ наличия резистентности у паразитических нематод *Haemonchus contortus* к антигельминтным препаратам бензимидазольного ряда методом гнездовой изотермической амплификации (ПЦР) // Российский паразитологический журнал. 2024. Т. 18. № 2. С. 170–178. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-2-170-178>
3. Avramenko R. W., Redman E. M., Windeyer C., Gilleard J. S. Assessing anthelmintic resistance risk in the post-genomic era: a proof-of-concept study assessing the potential for widespread benzimidazole-resistant gastrointestinal nematodes in North American cattle and bison. *Parasitology*. 2020; 147. 897–906. <https://doi.org/10.1017/S0031182020000426>
4. Coles G. C., Jackson F., Pomroy W. E., Prichard R. K., von Samson-Himmelstjerna G., Silvestre A., Taylor M. A., Vercruysse J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. 2006; 136 (3-4):167-185. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.019>
5. Hinney B., Wiedermann S., Bosco A., Rinaldi L., Hofer M., Joachim A., Krücken J., Steinborn R. Development of a three-color digital PCR for early and quantitative detection of benzimidazole resistance-associated single nucleotide polymorphisms in *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2023; 22. 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2023.06.001>
6. Kaplan R. M. Biology, epidemiology, diagnosis, and management of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of livestock. *Veterinary*

- Clinics: Food Animal Practice. 2020; 36 (1): 17–30. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.001>
7. Kaplan R. M., Denwood M. J., Nielsen M. K., Thamsborg S. M., Torgerson P. R., Gilleard J. S., Dobson R. J., Vercruysse J., Levecke B. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guideline for diagnosing anthelmintic resistance using the faecal egg count reduction test in ruminants, horses and swine. *Veterinary Parasitology*. 2023; 318. 109936. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.109936>
 8. Ng'etich A. I., Amoah I. D., Bux F. et al. Anthelmintic resistance in soil-transmitted helminths: One-Health considerations. *Parasitology Research*. 2024; 123. 62. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-08088-8>
 9. Rajagopal A., Sabu L., Radhika R., Devada K., Jain Jose K., Thomas N., Aravindakshan T. V. Development of PCR-RFLP for the detection of benzimidazole resistance polymorphisms in isotype 1 β -tubulin gene of *Trichostrongylus colubriformis*. *Small Ruminant Research*. 2023; 222. 106954. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.106954>
 10. Santos J. M. L., Vasconcelos J. F., Frota G. A., Freitas E. P., Teixeira M., Vieira L. S., Bevilacqua C. M. L., Monteiro J. P. Quantitative molecular diagnosis of levamisole resistance in populations of *Haemonchus contortus*. *Experimental Parasitology*. 2019; 205. 107734. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107734>
 11. Silvestre A., Humbert J.-F. A Molecular Tool for Species Identification and Benzimidazole Resistance Diagnosis in Larval Communities of Small Ruminant Parasites. *Experimental Parasitology*. 2000; 95 (4): 271–276. <https://doi.org/10.1006/expr.2000.4542>
 12. Van Wyk J. A., Mayhew E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2013; 80 (1). 539. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>
 13. Zajac A. M., Garza J. Biology, Epidemiology, and Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2020; 36 (1): 73–87. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.005>
 14. Zarlenga D. S., Barry Chute M., Gasbarre L. C., Boyd P. C. A multiplex PCR assay for differentiating economically important gastrointestinal nematodes of cattle. *Veterinary Parasitology*. 2001; 97 (3): 199–209. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00410-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00410-1)

Статья поступила в редакцию 11.03.25; одобрена после рецензирования 25.03.25; принята к публикации 30.04.25

Об авторах:

Пименов Илья Александрович, лаборант-исследователь лаборатории иммунологии и молекулярных исследований
Одоевская Ирина Михайловна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией иммунологии и молекулярных исследований; SPIN-код: 4024-3272, Researcher ID: B-1947-2017, Scopus ID: 24470255200.

Вклад авторов:

Пименов И. А. – гельминтологическое вскрытие, сбор гельминтов, выделение ДНК, постановка вложенной ПЦР, проведение реакции рестрикции, электрофоретическое разделение продуктов амплификации, подготовка статьи.

Одоевская И. М. – научное руководство, разработка дизайна исследований, ресурсное обеспечение НИР, анализ и интерпретация полученных результатов, обзор литературы, подготовка рукописи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Pimenov I. A., Odоеvskaya I. M., Varlamova A. I. Possibilities of using nested PCR-RFLP for taxonomic identification of L3 larvae of the family Trichostrongylidae, Leiper, 1912. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2024; 18 (3): 264–273. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-3-264-273>
2. Pimenov I.A., Varlamova A.I., Afanasyev A.D., Odоеvskaya I.M. Analysis of benzimidazole anthelmintic resistance in parasitic nematodes *Haemonchus contortus* using nested isothermal amplification (PCR). *Russian Journal of Parasitology*. 2024;18(2):170–178. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-2-170-178>
3. Avramenko R. W., Redman E. M., Windeyer C., Gilleard J. S. Assessing anthelmintic resistance risk in the post-genomic era: a proof-of-concept study assessing the potential for widespread benzimidazole-resistant gastrointestinal nematodes in North American cattle and bison. *Parasitology*. 2020; 147. 897–906. <https://doi.org/10.1017/S0031182020000426>

4. Coles G. C., Jackson F., Pomroy W. E., Prichard R. K., von Samson-Himmelstjerna G., Silvestre A., Taylor M. A., Vercruysse J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. 2006; 136 (3-4):167-185. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.019>
5. Hinney B., Wiedermann S., Bosco A., Rinaldi L., Hofer M., Joachim A., Krücken J., Steinborn R. Development of a three-color digital PCR for early and quantitative detection of benzimidazole resistance-associated single nucleotide polymorphisms in *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2023; 22. 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2023.06.001>
6. Kaplan R. M. Biology, epidemiology, diagnosis, and management of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. 2020; 36 (1): 17–30. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.001>
7. Kaplan R. M., Denwood M. J., Nielsen M. K., Thamsborg S. M., Torgerson P. R., Gilleard J. S., Dobson R. J., Vercruysse J., Levecke B. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guideline for diagnosing anthelmintic resistance using the faecal egg count reduction test in ruminants, horses and swine. *Veterinary Parasitology*. 2023; 318. 109936. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.109936>
8. Ng'etich A. I., Amoah I. D., Bux F. et al. Anthelmintic resistance in soil-transmitted helminths: One-Health considerations. *Parasitology Research*. 2024; 123. 62. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-08088-8>
9. Rajagopal A., Sabu L., Radhika R., Devada K., Jain Jose K., Thomas N., Aravindakshan T. V. Development of PCR-RFLP for the detection of benzimidazole resistance polymorphisms in isotype 1 β -tubulin gene of *Trichostrongylus colubriformis*. *Small Ruminant Research*. 2023; 222. 106954. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.106954>
10. Santos J. M. L., Vasconcelos J. F., Frota G. A., Freitas E. P., Teixeira M., Vieira L. S., Bevilacqua C. M. L., Monteiro J. P. Quantitative molecular diagnosis of levamisole resistance in populations of *Haemonchus contortus*. *Experimental Parasitology*. 2019; 205. 107734. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107734>
11. Silvestre A., Humbert J.-F. A Molecular Tool for Species Identification and Benzimidazole Resistance Diagnosis in Larval Communities of Small Ruminant Parasites. *Experimental Parasitology*. 2000; 95 (4): 271–276. <https://doi.org/10.1006/expr.2000.4542>
12. Van Wyk J. A., Mayhew E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2013; 80 (1). 539. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>
13. Zajac A. M., Garza J. Biology, Epidemiology, and Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2020; 36 (1): 73-87. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.005>
14. Zarlenga D. S., Barry Chute M., Gasbarre L. C., Boyd P. C. A multiplex PCR assay for differentiating economically important gastrointestinal nematodes of cattle. *Veterinary Parasitology*. 2001; 97 (3): 199-209. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00410-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00410-1)
9. Rajagopal A., Sabu L., Radhika R., Devada K., Jain Jose K., Thomas N., Aravindakshan T. V.

The article was submitted 11.03.2025; approved after reviewing 25.03.2025; accepted for publication 30.04.2025

About the authors:

Pimenov Iliya A., Laboratory Assistant-Researcher of the Laboratory of Immunology and Molecular Research.

Odoevskaya Irina M., Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Immunology and Molecular Research; SPIN code: 4024-3272, Researcher ID: B-1947-2017, Scopus ID: 24470255200.

Contribution of the authors:

Pimenov I. A. – helminthological dissection, collection of helminths, DNA isolation, nested PCR, restriction reaction, electrophoretic separation of amplification products, article preparation.

Odoevskaya I. M. – academic supervision, study design development, resource support for research work, analysis and interpretation of obtained results, literature review, manuscript preparation.

All authors have read and approved the final manuscript.