



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2304-196X (Print)
ISSN 2658-6959 (Online)

VETERINARY SCIENCE TODAY

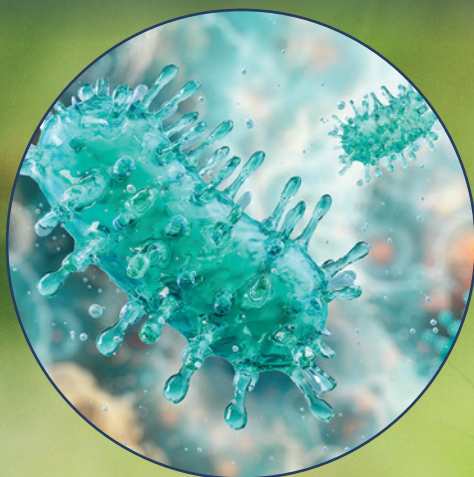
СЕНТЯБРЬ | SEPTEMBER ТОМ 14 № 3 2025

SCIENTIFIC JOURNAL



veterinary.arriah.ru/jour
DOI 10.29326/2304-196X

БЕШЕНСТВО ЖИВОТНЫХ



Основы профилактики
бешенства
в Республике Беларусь
(обзор)

стр. 223

Обзор современной эпизоотической
ситуации по бешенству в Российской
Федерации. Динамика изменений
за 35-летний период,
закономерности, влияющие факторы

стр. 232

Филогенетический
анализ изолятов вируса
бешенства, выделенных
от животных на территории
Волгоградской области

стр. 241



ЦЕЛИ И ОБЛАСТЬ (ТЕМАТИЧЕСКИЙ ОХВАТ)

Миссией издания является представление информации об основных направлениях развития российской и мировой ветеринарной науки и практики и привлечение внимания научной общественности к актуальным проблемам и инновационным разработкам в области ветеринарии.

Журнал ориентирован на ученых, занимающихся фундаментальными и прикладными исследованиями в области общей и ветеринарной вирусологии, эпизоотологии, иммунологии, микологии, микотоксикологии, бактериологии, практикующих ветеринарных врачей и врачей ветеринарных лабораторий и государственных ветеринарных служб, преподавателей вузов ветеринарной, биологической, медицинской направленностей, аспирантов и студентов вузов и колледжей.

AIMS AND SCOPE

The mission of the publication is the delivery of information on basic development trends of veterinary science and practice and highlighting of vital issues and innovative developments in veterinary area for scientific community.

The journal is intended for scientists engaged in fundamental and applied research in the field of general and veterinary virology, epizootology, immunology, mycology, micotoxicology, bacteriology, as well as practicing veterinarians and doctors of veterinary laboratories and state veterinary services, university-level teachers for veterinary, biological, medical specializations, graduate and postgraduate students.

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

Veterinariia segodnia

ПЕРИОДИЧНОСТЬ: 4 раза в год

СЕНТЯБРЬ ТОМ 14 № 3 2025

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

FREQUENCY: 4 times a year

SEPTEMBER VOLUME 14 No. 3 2025

Published since 2012

Научный журнал «Ветеринария сегодня» входит в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук» по научным специальностям:

- 1.5.10 Вирусология (ветеринарные науки);
- 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки).

Научный журнал «Ветеринария сегодня» включен в информационно-аналитическую систему РИНЦ, каталог журналов открытого доступа DOAJ, а также в список журналов, входящих в базу данных RSCI (Russian Science Citation Index).

Электронные версии журнала размещаются в полнотекстовом формате на сайте Научной электронной библиотеки (НЭБ) eLIBRARY.RU, в каталоге DOAJ и по адресу <https://veterinary.arriah.ru/jour>

Scientific Journal "Veterinary Science Today" is included in the scientometric system – Russian Science Citation Index (RSCI), Directory of Open Access Journals (DOAJ), as well as in the RSCI database.

Full-text e-versions of the Journal are published on the website of the scientific electronic library eLIBRARY.RU, DOAJ, and <https://veterinary.arriah.ru/jour>

Главный редактор: Груздев Константин Николаевич — д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>; AuthorID: 304722; Scopus Author ID: 26634733300; e-mail: gruzdev@arriah.ru; тел.: 8 (4922) 45-37-96

Шеф-редактор: Мелано Юлия, Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), г. Москва, Россия, e-mail: j.melano@ya.ru

Редакционная коллегия:

Болдбаатар Базарцэрэн — PhD в области ветеринарии, Монгольский университет естественных наук, г. Улан-Батор, Монголия; <https://orcid.org/0000-0002-6137-7990>; Scopus Author ID: 26634733300; ResearcherID: IRW-9905-2023

Василевич Федор Иванович — д-р вет. наук, профессор, академик РАН, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К. И. Скрябина», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0786-5317>; AuthorID: 285556; Scopus Author ID: 57190309524; ResearcherID: K-9491-2015

Глотов Александр Гаврилович — д-р вет. наук, профессор, ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН», пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>; AuthorID: 236129; Scopus Author ID: 7004340265; ResearcherID: L-7720-2017

Гринь Светлана Анатольевна — д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия; <https://orcid.org/0009-0000-8984-7002>; AuthorID: 563647; ResearcherID: B-2813-2018

Гулюкин Михаил Иванович — д-р вет. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>; AuthorID: 112679; Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: V-4640-2017

Забережный Алексей Дмитриевич — д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>; AuthorID: 91643; Scopus Author ID: 6507196549; ResearcherID: V-7959-2017

Иголкин Алексей Сергеевич — канд. вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>; AuthorID: 721219; Scopus Author ID: 56469415600; ResearcherID: GZN-0688-2022

Ирза Виктор Николаевич — д-р вет. наук, доцент, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>; AuthorID: 332278; Scopus Author ID: 24279315500

Кононов Александр Владимирович — д-р вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>; AuthorID: 768208; Scopus Author ID: 56411709300

Красочко Петр Альбинович — д-р вет. наук, д-р биол. наук, профессор, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-4641-4757>; AuthorID: 751960; Scopus Author ID: 6504022390

Кузьмина Елена Васильевна — д-р вет. наук, Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>; AuthorID: 359696; Scopus Author ID: 57192088323; ResearcherID: AAO-7813-2020

Ломако Юрий Васильевич — канд. вет. наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселского», г. Минск, Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; AuthorID: 1049578; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

Макаров Владимир Владимирович — д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «Центр ветеринарии», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>; AuthorID: 78150; Scopus Author ID: 7401689971

Махамат Нгуерабе Ямтитина — д-р вет. наук, Комратский государственный университет, г. Комрат, Молдова; <https://orcid.org/0000-0002-2738-0408>; AuthorID: 1064174

Метлин Артем Евгеньевич — д-р вет. наук, Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций, г. Рим, Италия; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>; AuthorID: 149714; Scopus Author ID: 6505942586; ResearcherID: Z-2189-2019

Мищенко Владимир Александрович — д-р вет. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>; AuthorID: 762858; Scopus Author ID: 7103128956; ResearcherID: AAU-7410-2021

Мищенко Наталья Владимировна — д-р биол. наук, доцент, ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет им. А. Г. и Н. Г. Столетовых», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3643-3129>; AuthorID: 66095; Scopus Author ID: 7004534956; ResearcherID: ANH-4663-2022

Настасиевич Иван — PhD в области ветеринарии, Институт гигиены и технологии мяса, г. Белград, Сербия; <https://orcid.org/0000-0002-7141-269X>; SciProfiles: 2500444; Loop profile: 1914298; Scopus Author ID: 8630551700; ResearcherID: AGJ-7566-2022

Недосеков Виталий Владимирович — д-р вет. наук, профессор, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина; <https://orcid.org/0000-0001-7581-7478>; AuthorID: 94733; Scopus Author ID: 57189580555; SciProfiles: 2357633; ResearcherID: ABE-7283-2020

Выпускающий редактор: Никешина Татьяна, канд. биол. наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: nikeshina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; AuthorID: 768521; Тел: 8 (4922) 26-15-12, доб. 22-27

Фото на обложке: [quantic69 / piola666 / GettyImages](https://www.gettyimages.com/detail/photo/quantic69/piola666/GettyImages)

Никитин Иван Николаевич — д-р вет. наук, ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; AuthorID: 768437; Scopus Author ID: 58616318800; ResearcherID: F-5330-2019

Плющиков Вадим Геннадьевич — д-р с.-х. наук, профессор, Аграрно-технологический институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2057-4602>; AuthorID: 410076; Scopus Author ID: 35410040100; ResearcherID: V-4141-2017

Пронин Валерий Васильевич — д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», пос. Вольгинский, Владимирская область, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; AuthorID: 666636; Scopus Author ID: 57878337900; ResearcherID: C-3433-2014

Прохватилова Лариса Борисовна — канд. биол. наук, доцент, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9560-0724>; AuthorID: 49638; Scopus Author ID: 17346898000; ResearcherID: JAC-6920-2023

Прунтова Ольга Владиславовна — д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>; AuthorID: 416163; Scopus Author ID: 6504372679

Равилов Рустам Хаметович — д-р вет. наук, профессор, ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7210-7470>; AuthorID: 417736; Scopus Author ID: 6506697664; ResearcherID: Q-1810-2015

Русалеев Владимир Сергеевич — д-р вет. наук, профессор, г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>; AuthorID: 731801; Scopus Author ID: 57219163783

Савченкова Ирина Петровна — д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3560-5045>; AuthorID: 116034; Scopus Author ID: 6506749368; ResearcherID: D-3777-2014

Самарджия Марко — PhD в области ветеринарии, профессор, Загребский университет, факультет ветеринарной медицины, г. Загреб, Хорватия; <https://orcid.org/0000-0003-0402-3173>; Scopus Author ID: 8410731800; ResearcherID: ACB-2749-2022; SciProfiles: 652922

Сидорчук Александр Андреевич — д-р вет. наук, профессор, г. Москва, Россия; AuthorID: 508887; Scopus Author ID: 57191965356

Соколович Марьяна — PhD в области ветеринарии, Хорватский ветеринарный институт, Центр птицеводства, г. Загреб, Хорватия; <https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>; Scopus Author ID: 21835149800; SciProfiles: 1947001; ResearcherID: Y-8635-2019

Старов Сергей Константинович — канд. вет. наук, старший научный сотрудник, заместитель главного редактора, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; AuthorID: 596191; Scopus Author ID: 6507314336

Субботин Александр Михайлович — д-р биол. наук, профессор, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-2449-0097>; AuthorID: 709795

Сулейманов Сулейман Мухитдинович — д-р вет. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I», г. Воронеж, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0461-9885>; AuthorID: 80671; Scopus Author ID: 57204718558

Федотов Сергей Васильевич — д-р вет. наук, профессор, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К. А. Тимирязева», г. Москва, Россия; AuthorID: 460625; Scopus Author ID: 58822775800

Чвала Илья Александрович — канд. вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>; AuthorID: 705819; Scopus Author ID: 57204228517; SciProfiles: 2392489; ResearcherID: K-5603-2016

Шахов Алексей Гаврилович — д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>; AuthorID: 605505; Scopus Author ID: 7005636727; ResearcherID: AAA-8731-2020

Шкуратова Ирина Алексеевна — д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, Уральский НИВИ — структурное подразделение ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; AuthorID: 482688; Scopus Author ID: 57192078535; ResearcherID: AAD-3416-2022

Эрдэнэбаатар Жанчивдорж — PhD в области ветеринарии, профессор, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия; Scopus Author ID: 6602798556

Дизайн и верстка:

Бондарь Мария

Ответственный редактор:

Гусева Елена

Редактор-координатор:

Власова Яна

Редакторы-корректоры:

Нурмухамбетова-Михайлова Юлия,

Рязузова Мария

Корректор:

Тулеева Карина

Журнал «Ветеринария сегодня»

зарегистрирован в Федеральной

службе по надзору в сфере связи,

информационных технологий

и массовых коммуникаций,

свидетельство о регистрации

№ ФС 77-49033 от 21 марта 2012 г.

Тираж 1175 экземпляров. Цена свободная

Подписку на научный журнал

«Ветеринария сегодня» можно оформить

через Агентство по подписке ООО «УРАЛ-Пресс

Стандарт»: Подписный индекс — 83862;

127015, г. Москва, Новодмитровская ул.,

дом 5а, строение 4; 8 (499) 700-05-07,

факс: 789-86-36 доб. 3777;

e-mail: moscow@ural-press.ru

Учредитель: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Владимирская обл.,

г. Владимир, мкр. Юрьевец, ул. Гвардейская, д. 6

Издатель: ООО «Вейнард», 129626, г. Москва,

проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12

Адрес редакции: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901,

Владимирская обл., г. Владимир, мкр. Юрьевец,

ул. Гвардейская, д. 6

Типография: ООО «ГРАН ПРИ», 152900,

Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7

Подписано в печать:

16 сентября 2025 года

Дата выхода в свет:

30 сентября 2025 года

© ФГБУ «ВНИИЗЖ»,

научное редактирование,

корректурка статей,

2025

Creative Commons

Attribution 4.0 License

16+

CC BY

Editor-in-Chief: Konstantin N. Gruzdev – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>; AuthorID: 304722; Scopus Author ID: 6506731135; e-mail: gruzdev@arriah.ru; Tel.: +7 (4922) 45-37-96

Editorial Director: Julia Melano, Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhozadzor), Moscow, Russia, e-mail: j.melano@ya.ru

Executive Editor: Tatiana Nikeshina, Cand. Sci. (Biology), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia, e-mail: nikeshina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; AuthorID: 768521; Tel.: +7 (4922) 26-15-12, ext. 22-27
Cover photo: [quantic69](#) / [piola666](#) / GettyImages

Editorial Board:

Boldbaatar Bazartseren – PhD/DVM, Mongolian University of Life Sciences, Ulan Bator, Mongolia; <https://orcid.org/0000-0002-6137-7990>; Scopus Author ID: 2663473300; ResearcherID: [JRW-9905-2023](#)

Fedor I. Vasilevich – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the RAS, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA n. a. K. I. Skryabin, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0786-5317>; AuthorID: 285556; Scopus Author ID: 57190309524; ResearcherID: [K-9491-2015](#)

Alexander G. Glotov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>; AuthorID: 236129; Scopus Author ID: 7004340265; ResearcherID: [L-7720-2017](#)

Svetlana A. Grin – Dr. Sci. (Biology), Professor, Corresponding Member of the RAS, All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry, Schelkovo, Russia; <https://orcid.org/0009-0000-8984-7002>; AuthorID: 563647; ResearcherID: [B-2813-2018](#)

Mikhail I. Gulyukin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the RAS, Honorary Scientist of the Russian Federation, Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>; AuthorID: 112679; Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: [V-4640-2017](#)

Alexei D. Zaberezhny – Dr. Sci. (Biology), Professor, Corresponding Member of the RAS, All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry, Schelkovo, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>; AuthorID: 91643; Scopus Author ID: 6507196549; ResearcherID: [V-7959-2017](#)

Alexey S. Igolkin – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>; AuthorID: 721219; Scopus Author ID: 56469415600; ResearcherID: [GZN-0688-2022](#)

Viktor N. Irza – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>; AuthorID: 332278; Scopus Author ID: 24279315500

Aleksandr V. Kononov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>; AuthorID: 768208; Scopus Author ID: 56411709300

Petr A. Krasochko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Dr. Sci. (Biology), Professor, The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-4641-4757>; AuthorID: 751960; Scopus Author ID: 6504022390

Elena V. Kuzminova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Krasnodar Research Veterinary Institute – Detached Unit Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>; AuthorID: 359696; Scopus Author ID: 57192088323; ResearcherID: [AAO-7813-2020](#)

Yurij V. Lamaka – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research Republican Unitary Enterprise the Institute of Experimental Veterinary Medicine n. a. S. N. Vysheslesky, Minsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; AuthorID: 1049578; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: [AAE-5001-2019](#)

Vladimir V. Makarov – Dr. Sci. (Biology), Professor, Center of Veterinary, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>; AuthorID: 78150; Scopus Author ID: 7401689971

Mahamat Nguerabe Yamtitina – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Comrat State University, Comrat, Moldova; <https://orcid.org/0000-0002-2738-0408>; AuthorID: 1064174

Artem Ye. Metlin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>; AuthorID: 149714; Scopus Author ID: 6505942586; ResearcherID: [Z-2189-2019](#)

Vladimir A. Mishchenko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>; AuthorID: 762858; Scopus Author ID: 7103128956; ResearcherID: [AAU-7410-2021](#)

Natalia V. Mishchenko – Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Vladimir State University, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3643-3129>; AuthorID: 66095; Scopus Author ID: 7004534956; ResearcherID: [AHB-4663-2022](#)

Ivan Nastasijevic – PhD/DVM, Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia; <https://orcid.org/0000-0002-7141-269X>; SciProfiles: 2500444; Loop profile: 1914298; Scopus Author ID: 8630551700; ResearcherID: [AGJ-7566-2022](#)

Vitalii V. Nedosekov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0001-7581-7478>; AuthorID: 94733; Scopus Author ID: 57189580555; SciProfiles: 2357633; ResearcherID: [ABE-7283-2020](#)

Ivan N. Nikitin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Kazan State Academy of Veterinary Medicine n. a. N. E. Bauman, Kazan, Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; AuthorID: 768437; Scopus Author ID: 58616318800; ResearcherID: [F-5330-2019](#)

Vadim G. Plyushchikov – Dr. Sci. (Agricultural Science), Professor, Agrarian and Technological Institute, RUDN University, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2057-4602>; AuthorID: 410076; Scopus Author ID: 35410040100; ResearcherID: [V-4141-2017](#)

Valery V. Pronin – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Research Centre for Virology and Microbiology, Volginsky, Vladimir Region, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; AuthorID: 666636; Scopus Author ID: 57878337900; ResearcherID: [C-3433-2014](#)

Larisa B. Prokhvatilova – Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9560-0724>; AuthorID: 49638; Scopus Author ID: 17346898000; ResearcherID: [JAC-6920-2023](#)

Olga V. Pruntova – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>; AuthorID: 416163; Scopus Author ID: 6504372679

Rustam K. Ravilov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Kazan State Agricultural University, Kazan, Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7210-7470>; AuthorID: 417736; Scopus Author ID: 6506697664; ResearcherID: [Q-1810-2015](#)

Vladimir S. Rusaleyev – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>; AuthorID: 731801; Scopus Author ID: 57219163783

Irina P. Savchenkova – Dr. Sci. (Biology), Professor, Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3560-5045>; AuthorID: 116034; Scopus Author ID: 6506749368; ResearcherID: [D-3777-2014](#)

Marko Samardžija – PhD/DVM, Professor, University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Croatia; <https://orcid.org/0000-0003-0402-3173>; Scopus Author ID: 8410731800; ResearcherID: [ACB-2749-2022](#); SciProfiles: 652922

Alexander A. Sidorchuk – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Moscow, Russia; AuthorID: 508887; Scopus Author ID: 57191965356

Marijana Sokolovic – PhD/DVM, Croatian Veterinary Institute, Poultry Centre, Zagreb, Croatia; <https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>; Scopus Author ID: 21835149800; SciProfiles: 1947001; ResearcherID: [Y-8635-2019](#)

Sergey K. Starov – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Deputy Editor-in-Chief, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; AuthorID: 596191; Scopus Author ID: 6507314336

Alexander M. Subotsin – Dr. Sci. (Biology), Professor, The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-2449-0097>; AuthorID: 709795

Suleiman M. Suleymanov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Honorary Scientist of the Russian Federation, Voronezh State Agrarian University n. a. Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0461-9885>; AuthorID: 80671; Scopus Author ID: 57204718558

Sergei V. Fedotov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia; AuthorID: 460625; Scopus Author ID: 58822775800

Ilya A. Chvala – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>; AuthorID: 705819; Scopus Author ID: 57204228517; SciProfiles: 2392489; ResearcherID: [K-5603-2016](#)

Alexey G. Shakhov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS, All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>; AuthorID: 605505; Scopus Author ID: 7005636727; ResearcherID: [AAA-8731-2020](#)

Irina A. Shkuratova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS, Ural Research Veterinary Institute – UrfASRC, UrB of RAS, Yekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; AuthorID: 482688; Scopus Author ID: 57192078535; ResearcherID: [DAAD-3416-2022](#)

Erdenebaatar Janchivdorj – PhD/DVM, Professor, Institute of Veterinary Medicine, Ulan Bator, Mongolia; Scopus Author ID: 6602798556

Design and composition:

Maria Bondar

Managing Editor:

Elena Guseva

Coordinating Editor:

Iana Vlasova

Content editors:

Julia Nurmukhambetova-Mikhailova,

Maria Ryaguzova

Proof-reader:

Karina Tulueva

The Journal "Veterinary Science

Today" is registered in the

Federal Service for Supervision

of Communications, Information

Technology, and Mass Media Federal

Service, Registration Certificate

No F5 77-49033, March 21, 2012.

Circulation: 1175. Price: unregulated

Veterinary Science Today Journal

can be subscribed through

the Ural-Press subscription agency:

Subscription code – 83862;

127015, Moscow, Novodmitrovskaya str.,

5a, str. 4; +7 (499) 700-05-07,

fax: 789-86-36 add. 3777;

e-mail: moscow@ural-press.ru

Founder: Federal Centre for Animal Health, 600901, Vladimir Oblast, Vladimir, Yur'evets, ul. Gvardeyskaya, 6

Publisher: Veinard, 129626, Moscow,

102 Prospect Mira, bld. 31, office 12

Editorial Staff Office: Federal Centre for Animal

Health, 600901, Vladimir Oblast, Vladimir,

Yur'evets, ul. Gvardeyskaya, 6

Printing Office: Grand Prix, 152900,

Yaroslavl Oblast, Rybinsk, Lugovaya str., 7

Approved for print:

September 16, 2025

Issued:

September 30, 2025

16+

© Federal Centre for Animal Health, scientific editing, proofreading of articles, 2025

Creative Commons Attribution 4.0 License



Содержание

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ | БЕШЕНСТВО ЖИВОТНЫХ

- 218** О реализации Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством
И. А. Чвала, Е. В. Чернышова, Т. М. Беякова, А. Е. Метлин

ОБЗОРЫ | БЕШЕНСТВО ЖИВОТНЫХ

- 223** Основы профилактики бешенства в Республике Беларусь (обзор)
И. А. Субботина, С. В. Даровских, А. Л. Лешкевич, И. А. Дорофейчик, А. К. Ляховский

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БЕШЕНСТВО ЖИВОТНЫХ

- 232** Обзор современной эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации.
Динамика изменений за 35-летний период, закономерности, влияющие факторы
А. М. Гулюкин, А. А. Шабейкин
- 241** Филогенетический анализ изолятов вируса бешенства, выделенных от животных на территории Волгоградской области
С. А. Чупин, Е. В. Чернышова, Р. С. Чернышев, К. Н. Груздев, А. Н. Спиридонов, А. В. Варкентин, Н. А. Назаров, И. Д. Зарва, А. Д. Ботвинкин
- 249** Разработка системы внутреннего контроля на основе штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни при диагностике бешенства методом ОТ-ПЦР
С. А. Чупин

ОБЗОРЫ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 255** Дрейф генов антибиотикорезистентности патогенных энтеробактерий на примере *Escherichia coli*
Н. В. Пименов, К. П. Маликова

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 263** Роль пуринергической сигнализации и цитокиновой сети в воспалительном процессе
В. В. Мосягин, Е. А. Исакова, Г. Ф. Рыжкова, И. П. Мосягина

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

- 274** Валидация и применение тест-системы на основе метода ПЦР в режиме реального времени для выявления ДНК *Mycoplasma dispar*
М. Абед Алхуссен, О. Е. Федорова, А. О. Кротова, О. П. Бьядовская, А. В. Спрыгин
- 283** Разработка и применение иммуноферментной тест-системы для оценки гуморального иммунитета против вируса ящура топотипа SAT2/XIV
Н. Н. Луговская, Ю. С. Елькина, М. А. Шевченко, Ы. М. Гочмурадов, Н. Д. Клюкина, Д. В. Михалишин, А. В. Борисов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 294** Видовое разнообразие микроорганизмов и распространение антибиотикорезистентных энтеробактерий на молочных фермах
В. Д. Зубарева, Н. А. Безбородова, П. Г. Аминева, А. С. Кривоногова, О. В. Соколова, И. А. Шкуратова, М. Н. Исакова
- 302** Идентификация и некоторые биологические свойства изолятов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из толстого отдела кишечника птицы
Н. И. Малик, Н. А. Чупахина, И. А. Русанов, Е. В. Малик, Л. А. Маленкова, Н. С. Самохвалова, М. В. Сурогин
- 310** Антибиотикорезистентность бактерий рода *Salmonella*, выявленных в продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.
О. А. Акулич, Н. Б. Шадрова, Г. С. Денисова

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

- 319** К 75-летию Владимира Сергеевича Русалеева
- 320** К 75-летию Константина Николаевича Груздева

Contents

BRIEF COMMUNICATIONS | ANIMAL RABIES

- 218** Implementation of the Joint Action Plan by the CIS Members to Prevent and Control Rabies
I. A. Chvala, E. V. Chernyshova, T. M. Belyakova, A. Ye. Metlin

REVIEWS | ANIMAL RABIES

- 223** Basics of rabies prevention in the Republic of Belarus (review)
I. A. Subotsina, S. V. Darovskyh, A. L. Leshkevich, I. A. Dorofeychik, A. K. Lyakhovsky

ORIGINAL ARTICLES | ANIMAL RABIES

- 232** Rabies in the Russian Federation:
A 35-year review of trends, patterns, and influencing factors
A. M. Gulyukin, A. A. Shabeykin
- 241** Phylogenetic analysis of rabies virus isolates recovered from animals in Volgograd Oblast
**S. A. Chupin, E. V. Chernyshova, R. S. Chernyshev, K. N. Gruzdev, A. N. Spiridonov,
A. V. Varkentin, N. A. Nazarov, I. D. Zarva, A. D. Botvinkin**
- 249** Construction of Newcastle disease virus LaSota strain-based internal sample
for rabies diagnosis with RT-PCR
S. A. Chupin

REVIEWS | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 255** Drift of antibiotic resistance genes in pathogenic *Enterobacteriaceae*: a case study of *Escherichia coli*
N. V. Pimenov, K. P. Malikova

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 263** The role of purinergic signaling and cytokine network in the inflammatory process
V. V. Mosyagin, E. A. Isakova, G. F. Ryzhkova, I. P. Mosyagina

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 274** Validation and application of qPCR test kit
for detection of *Mycoplasma dispar* DNA
M. Abed Alhussen, O. E. Fedorova, A. O. Krotova, O. P. Byadovskaya, A. V. Sprygin
- 283** Development and application of ELISA test system for assessing humoral immunity
against SAT2 topotype XIV foot-and-mouth disease virus
**N. N. Lugovskaya, Yu. S. El'kina, M. A. Shevchenko, Y. M. Gochmuradov,
N. D. Klyukina, D. V. Mikhailishin, A. V. Borisov**

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 294** Microbial species diversity and antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* spread on dairy farms
**V. D. Zubareva, N. A. Bezborodova, P. G. Amineva, A. S. Krivonogova,
O. V. Sokolova, I. A. Shkuratova, M. N. Isakova**
- 302** Identification and some biological characteristics of *Bacillus* strains
isolated from poultry large intestine
N. I. Malik, N. A. Chupahina, I. A. Rusanov, E. V. Malik, L. A. Malenkova, N. S. Samokhvalova, M. V. Surogin
- 310** Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. detected in animal products in 2022–2024
O. A. Akulich, N. B. Shadrova, G. S. Denisova

ANNIVERSARY DATES

- 319** On the 75th anniversary of Vladimir S. Rusaleyev
- 320** On the 75th anniversary of Konstantin N. Gruzdev



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-218-222>
УДК 619:619.98:578.824.11:616-036.22 (47+57)



О реализации Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством

И. А. Чвала¹, Е. В. Чернышова¹, Т. М. Белякова², А. Е. Метлин³

¹ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

² Исполнительный комитет СНГ, Софийская наб., 34/1, г. Москва, 115035, Россия

³ Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций, Viale delle Terme di Caracalla, г. Рим, 00153, Италия

РЕЗЮМЕ

Бешенство – широко распространенное инфекционное заболевание млекопитающих животных, в том числе человека. Заболевание проявляется нарушением функции центральной нервной системы. Эпизоотическая ситуация по бешенству в мире остается напряженной, не отличается ситуация и в странах СНГ. Для достижения стойкого благополучия по бешенству необходим комплексный подход. Решением Межправительственного совета по сотрудничеству в области ветеринарии Содружества Независимых Государств от 12 мая 2016 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» было поручено подготовить проект Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 г. Комплекс был разработан и утвержден решением Совета глав правительств СНГ от 1 июня 2018 г. В статье подводятся итоги реализации Комплекса совместных действий до 2025 г. и освещается разработка Комплекса совместных действий на 2025–2030 гг., основной целью которого является минимизация риска распространения очагов бешенства на территории государств – участников СНГ.

Ключевые слова: ФГБУ «ВНИИЗЖ», страны СНГ, бешенство, Комплекс совместных действий, концепция «Единое здоровье», профилактика

Для цитирования: Чвала И. А., Чернышова Е. В., Белякова Т. М., Метлин А. Е. О реализации Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 218–222. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-218-222>

Конфликт интересов: Чвала И. А. и Метлин А. Е. являются членами редколлегии, но не имеют никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для корреспонденции: Чернышова Елена Владимировна, канд. вет. наук, заведующий референтной лабораторией по бешенству и ВСЕ ФГБУ «ВНИИЗЖ», ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, chernishova@arriah.ru

Implementation of the Joint Action Plan by the CIS Members to Prevent and Control Rabies

Iya A. Chvala¹, Elena V. Chernyshova¹, Tatiana M. Belyakova², Artem Ye. Metlin³

¹ Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

² CIS Executive Committee, 34/1 Sofiyskaya Embankment, Moscow 115035, Russia

³ Food and Agriculture Organization of the United Nations, Viale delle Terme di Caracalla, Rome 00153, Italy

ABSTRACT

Rabies is a fatal infection that attacks the central nervous system of mammals, including humans, leading to severe neurological dysfunction. Rabies continues to be a serious concern worldwide, including within the CIS countries. A comprehensive approach is essential to achieve and sustain freedom from rabies. On May 12, 2016, the Intergovernmental Council for Veterinary Cooperation of the Commonwealth of Independent States (CIS) tasked the Federal Centre for Animal Health with developing a draft Joint Action Plan for the CIS Member States on Rabies Prevention and Control, to cover the period through 2025. The set was developed and approved by the decision of the Council of Heads of the CIS Government on June 1, 2018. This paper reviews the implementation results of the Joint Action Plan to 2025 and presents the subsequent plan for 2025–2030, developed with the primary goal of mitigating the risk of rabies outbreak spread throughout the CIS members.

Keywords: FGBI "ARRIAH", CIS members, rabies, Joint Action Plan, One Health, prevention

For citation: Chvala I. A., Chernyshova E. V., Belyakova T. M., Metlin A. Ye. Implementation of the Joint Action Plan by the CIS Members to Prevent and Control Rabies. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 218–222. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-218-222>

Conflict of interests: Chvala I. A. and Metlin A. Ye. are members of the editorial board. None of the authors were involved into decision making process related to the article publication. The authors declared no other conflicts of interests.

For correspondence: Elena V. Chernyshova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, chernyshova@arriah.ru

Бешенство (rabies) – широко распространенное инфекционное заболевание теплокровных животных и человека. Проявляется нарушением функции центральной нервной системы, а именно параличами и энцефаломиелитом с летальным исходом. Регистрируется на всех континентах земного шара, кроме Австралии и Антарктиды (рис. 1).

Несмотря на успешное искоренение этого заболевания в некоторых европейских странах, эпизоотическая ситуация на территории многих стран Евразии, Африки и Америки остается сложной. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), от бешенства ежегодно умирают около 70 тыс. человек более чем в 150 странах, причем 95% случаев приходится на Африку и Азию, где осведомленность об этой болезни и доступ к соответствующей профилактике ограничены или отсутствуют. Заболевание регистрируется как среди диких плотоядных, так и домашних животных, которые являются основным переносчиком вируса. Первенство по числу случаев бешенства среди людей и животных занимают азиатские страны. Для обмена

опытом по борьбе с инфекцией, методам диагностики, а также актуальной информацией о диагностических и профилактических препаратах ежегодно ко Всемирному дню борьбы с бешенством (28 сентября) организуются международные конференции. В 2024 г. в ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») в рамках четырехстороннего партнерства ВОЗ, Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ), Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций (ФАО) и Программы ООН по окружающей среде (ЮНЕП) проведена Международная научно-практическая конференция «Бешенство – преодолевая барьеры», приуроченная к этому дню. В работе конференции приняли участие заместитель генерального директора ФАО – главный ветеринар ФАО доктор Танават Тиенсин; директор Отделения ФАО для связи с Российской Федерацией Олег Кобяков; глава офиса ВОЗ в РФ Батыр Бердыклычев; глава представительства ЮНЕП в РФ Владимир Мошкало; глава регионального представительства ВОЗЖ в Москве Будимир Плавшич.



Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по бешенству в мире на 30 декабря 2024 г.

Fig. 1. Global rabies situation as of December 30, 2024



Рис. 2. Диплом конкурса «Золотая осень – 2018»

Fig. 2. Golden Autumn 2018 Diploma

Конференция собрала более 400 участников: экспертов международных организаций, ведущих ветеринарных специалистов российских научно-исследовательских и образовательных учреждений, представителей власти и общественности. По итогам мероприятия эксперты сформировали главные составляющие концепции борьбы с бешенством, в том числе повышение информированности населения о смертельно опасном заболевании, решение проблемы бездомных животных путем обязательной идентификации домашних питомцев и вакцинации кошек и собак.

Эпизоотическая обстановка по бешенству животных неблагополучна во многих граничащих с Россией странах, таких как Беларусь, Азербайджан, Казахстан, Монголия, Китай. Прибалтийские страны лишь несколько лет назад сумели элиминировать заболевание благодаря интенсивной и широкомасштабной кампании по оральной вакцинации. Хорошим примером по ликвидации инфекции могут служить страны Балканского полуострова, такие как Словения, Хорватия, Сербия, Северная Македония, Черногория и Албания, а также Болгария. Они разработали программы, направленные на борьбу с бешенством, включающие вакцинацию, мониторинг и надзор, в результате чего им удалось полностью искоренить заболевание на своих территориях. Из этих стран на фоне строгого эпизоотологического надзора уже много лет нет сообщений о вспышках заболевания, хотя и фиксируются единичные, так называемые завозные, случаи бешенства животных.

Поскольку в мире увеличивается число случаев бешенства собак, возрастает роль этих животных в качестве источника возбудителя заболевания, что ставит под угрозу здоровье человека. В рамках глобальной инициативы ВОЗ, ВОЖ, ФАО об элиминации переносимого собаками бешенства среди людей к 2030 г., принятой на международной конференции по бешенству в 2015 г., РФ, как члену этих международных организаций, предстояло предпринять определенные действия в научно-исследовательском, информационно-методическом, законодательном и практическом направлениях. Первые шаги в этом направлении были сделаны в РФ в 2000 г., когда приказом Департамента ветеринарии Минсельхоза России от 19 октября 2000 г. № 32 Всероссийский научно-исследователь-

ский институт защиты животных (в настоящее время – ФГБУ «ВНИИЗЖ») определили диагностическим центром по исследованию на бешенство. Данным приказом за ФГБУ «ВНИИЗЖ» были закреплены функции контроля за эпизоотической ситуацией и право внесения предложений по совершенствованию методов диагностики, диагностических и профилактических препаратов, организации и проведению специфической профилактики заболевания у домашних животных и в дикой фауне. Решением Межправительственного совета по сотрудничеству в области ветеринарии Содружества Независимых Государств от 12 мая 2016 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» было поручено подготовить проект Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 г. (далее – Комплекс совместных действий). Было определено, что для достижения стойкого благополучия по бешенству и снижения экономического ущерба, наносимого этим заболеванием, необходим комплексный подход, включающий разработку и адаптацию методов лабораторной диагностики и схемы их применения; оценку эффективности антирабической иммунизации; проведение масштабных молекулярно-биологических исследований в России и ряде стран, с которыми граничит государство СНГ; изучение молекулярно-биологических и антигенных свойств вакцинных штаммов возбудителя, применяемых для профилактики этого заболевания. Перечисленные задачи невозможно решить без активного международного сотрудничества, включающего обмен опытом, знаниями и без проведения совместных научно-исследовательских работ. Комплекс совместных действий был разработан и утвержден решением Совета глав правительств СНГ от 1 июня 2018 г. Указанное решение подписали правительства республик Армении, Беларуси, Казахстана, Таджикистана, Узбекистана, Кыргызской Республики и Российской Федерации.

За разработку Комплекса совместных действий в 2018 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» было награждено золотой медалью конкурса «Золотая осень» (рис. 2).

За время реализации Комплекса совместных действий с 2018 по 2025 г. во всех странах – участниках СНГ выполнялись мероприятия, предусмотренные в документе, разрабатывались и внедрялись национальные планы борьбы с бешенством, проводились диагностические исследования диких и домашних животных, в ряде стран диагностические лаборатории были аккредитованы на соответствие требованиям ГОСТ ISO/IEC 17025-2019, оценивалась эпизоотическая ситуация, осуществлялась профилактическая иммунизация животных и мониторинг иммунного статуса, что способствовало обеспечению благополучия и снижению риска заражения человека и животных, минимизации экономического ущерба от заболевания.

Успехам в профилактике и борьбе с бешенством также способствовала проводимая ФГБУ «ВНИИЗЖ» (в качестве базовой организации для государств – участников СНГ) работа по повышению квалификации и переподготовке кадров ветеринарных специалистов из стран СНГ по вопросам диагностики бешенства, а также современным методам профилактики заболевания и борьбы с ним.

В ряде стран в целях создания минимально необходимого запаса ветеринарных препаратов для

проведения противоэпизоотических мероприятий, включающих профилактику, диагностику заразных болезней животных и их лечение, а также принятия мер по недопущению распространения и ликвидации очагов заразных болезней животных формировался резервный фонд ветеринарных препаратов, в частности создавался запас антирабической вакцины и антирабического иммуноглобулина для проведения лечебно-профилактической и профилактической иммунизации населения. Лаборатории, выполняющие диагностику бешенства, регулярно принимали участие в межлабораторных сличительных испытаниях.

Осуществлялось проведение научно-исследовательских работ по молекулярной эпидемиологии бешенства, созданию и пополнению национальных коллекций полевых изолятов, подтверждалось отсутствие среди выявленных изолятов вакцинных штаммов вируса бешенства, что свидетельствует о безопасности применяемых антирабических вакцин.

Результаты накопленного опыта ежегодно публиковались в виде научных статей в открытых источниках (журналы, научные издания, сборники трудов, материалы конференций), а также были представлены в виде докладов на международных научно-практических конференциях, круглых столах, семинарах, вебинарах.

Ветеринарными службами государств – участников СНГ на постоянной основе проводилась работа по информированию населения о важности мер про-

филактики бешенства, правилах поведения при укусах животных: публиковались статьи, размещались информационные листовки и памятки на интернет-сайтах учреждений и организаций.

Для подготовки информации об итогах реализации Комплекса совместных действий Исполкомом СНГ были направлены письма в правительства государств – участников СНГ, ответы были получены из республик Армения, Беларусь, Казахстан, Таджикистан, Узбекистан, Кыргызской Республики и Российской Федерации.

Анализ предоставленных государствами – участниками СНГ отчетов показал, что эпизоотическая ситуация по бешенству в странах СНГ остается напряженной (рис. 3), однако все проводимые мероприятия позволили достичь значительных результатов: снизить количество случаев бешенства у животных, обеспечить оперативное выполнение лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарных мероприятий, предусмотренных Комплексом совместных действий.

Благодаря проведенной работе заложена долгосрочная база для возможности осуществления взаимодействия в государствах – участниках СНГ в целях эффективной профилактики бешенства и борьбы с ним. Достигнутые результаты позволяют продолжить последовательную работу по достижению эпизоотического благополучия и искоренению заболевания на территориях государств – участников СНГ. Несмотря на то что территории государств – участников СНГ в силу природных географических особенностей



Рис. 3. Эпизоотическая ситуация по бешенству в государствах – участниках СНГ на 28 декабря 2024 г.

Fig. 3. Rabies situation in the CIS members as of December 28, 2024

остаются неблагоприятными по бешенству, проделанная за прошедшие годы работа имела положительный эффект.

В связи с завершением действия Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 г. и с учетом того, что данное заболевание продолжает оставаться в государствах – участниках СНГ актуальной проблемой, Межправительственным советом по сотрудничеству в области ветеринарии принято решение поддержать предложение ФГБУ «ВНИИЗЖ» о продлении действия Комплекса совместных действий на период до 2030 г. Была подчеркнута необходимость развивать и совершенствовать налаженное тесное сотрудничество государств – участников СНГ в вопросах обеспечения благополучия по бешенству каждого государства и содружества в целом.

Проект разработанного ФГБУ «ВНИИЗЖ» Комплекса совместных действий на 2025–2030 гг. был рассмотрен в октябре 2024 г. в рамках 46-го очередного заседания Межправительственного совета по сотрудничеству в области ветеринарии в Туркменистане (г. Ашхабад) и одобрен представителями ветеринарных служб государств – участников СНГ. В период с 31 января по 21 февраля 2025 г. в отделении Исполнительного комитета СНГ (г. Москва) он прошел согласование на заседаниях экспертных групп и 18 июля 2025 г. получил одобрение на заседании Экономического совета СНГ. Вопрос об утверждении Комплекса совместных действий включен в повестку заседания Совета глав правительств СНГ 30 сентября 2025 г.

Комплекс совместных действий на 2025–2030 гг. основан на ранее принятых основополагающих документах в сфере ветеринарной безопасности государств – участников СНГ, сохраняет преемственность в целях, задачах, направлениях и формах междуна-

родного сотрудничества, определенных в Комплексе совместных действий на период до 2025 г. В нем учтены предложения ветеринарных служб государств – участников СНГ, рекомендации международных организаций и опыт реализации программ по борьбе с бешенством животных в странах Европейского союза, США и Канаде. Кроме того, в новом Комплексе совместных действий были отражены основные принципы стратегии «Ноль смертей от бешенства среди людей к 2030 г.», Трехстороннего меморандума о взаимопонимании между ВОЗ, ФАО и ВОЗЖ, цель которого – направлять и поддерживать страны в разработке и осуществлении их национальных планов по ликвидации бешенства, охватывающих концепции «Единое здоровье» и межсекторального сотрудничества.

Основной целью Комплекса совместных действий на 2025–2030 гг. является минимизация риска распространения очагов бешенства на территории государств – участников СНГ, а также ликвидация бешенства, передаваемого собаками.

Реализация Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2030 г. позволит: разработать национальные стратегии, направленные на прекращение циркуляции возбудителя бешенства среди популяций домашних и безнадзорных плотоядных животных, в первую очередь собак; продолжить реализацию ветеринарных мероприятий, направленных на снижение заболеваемости бешенством в популяциях диких плотоядных животных; содействовать ветеринарным службам в реализации задач, поставленных в главе 8.15 Infection with rabies virus Кодекса здоровья наземных животных ВОЗЖ; минимизировать риски возникновения бешенства у людей.

Поступила в редакцию / Received 28.07.2025

Принята к публикации / Accepted 29.08.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Чвала Илья Александрович, канд. вет. наук, заместитель директора по НИР ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, chvala@arriah.ru

Чернышова Елена Владимировна, канд. вет. наук, заведующий референтной лабораторией по бешенству и BSE, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4054-8532>, chernishova@arriah.ru

Белякова Татьяна Михайловна, советник отдела отраслевого экономического сотрудничества департамента экономического сотрудничества Исполнительного комитета СНГ, г. Москва, Россия; belyakova@e-cis.info

Метлин Артем Евгеньевич, д-р вет. наук, Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций, г. Рим, Италия; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>, artem.metlin@inbox.ru

Ilya A. Chvala, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, chvala@arriah.ru

Elena V. Chernyshova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4054-8532>, chernishova@arriah.ru

Tatiana M. Belyakova, Advisor to the Department of Sectoral Economic Cooperation of the Department of Economic Cooperation of the CIS Executive Committee, Moscow, Russia; belyakova@e-cis.info

Artem Ye. Metlin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>, artem.metlin@inbox.ru



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-223-231>
УДК 619:616.98:578.824.11:616-085.371(476)

Основы профилактики бешенства в Республике Беларусь (обзор)

И. А. Субботина¹, С. В. Даровских¹, А. Л. Лешкевич², И. А. Дорофейчик³, А. К. Ляховский⁴

¹ УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» (УО «ВГАВМ»), ул. 1-я Доватора, 7/11, г. Витебск, 210026, Республика Беларусь

² ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», ул. Казинца, 50, г. Минск, 220099, Республика Беларусь

³ Департамент ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, ул. Кирова, 15, г. Минск, 220030, Республика Беларусь

⁴ ОАО «БелВитунифарм», ул. Советская, 26А, д. Должа, Витебская область, 211309, Республика Беларусь

РЕЗЮМЕ

Введение. На современном этапе бешенство продолжает оставаться одним из самых опасных инфекционных заболеваний зоонозной природы. Республика Беларусь является неблагополучной по бешенству животных, при этом заболевание регистрируется во всех регионах страны.

Цель исследования. Целью работы являлись оценка эпизоотической ситуации по бешенству в республике и обобщение современных подходов к диагностике и профилактике заболевания.

Результаты. Приведены актуальные данные об эпизоотической и эпидемиологической ситуации по бешенству в Республике Беларусь. Бешенство на территории республики протекает в виде эпизоотии природного типа, в которую она была вовлечена совместно с граничащими государствами (Польша, Литва, Латвия, Украина, Россия). Чаще всего резервуаром вируса бешенства являются дикие плотоядные животные (70% от всех зарегистрированных случаев): лисицы, енотовидные собаки и волки. На втором месте – домашние плотоядные (кошки, собаки), в единичных случаях – сельскохозяйственные животные. В статье описаны основные направления работы ветеринарной и санитарно-эпидемиологической службы Республики Беларусь, включая специфическую профилактику бешенства среди домашних плотоядных животных, оральную антирабическую вакцинацию диких плотоядных животных и информационную работу с населением, приводятся исторические и современные данные о вакцинации и ее эффективности, представлены основные стратегические направления Комплексного плана профилактики бешенства на 2021–2025 гг., приведены данные об эффективности отдельных мероприятий плана.

Заключение. В Республике Беларусь проблема бешенства остается актуальной, в первую очередь она касается дикой фауны. Основопологающими методами борьбы с заболеванием являются оральная антирабическая вакцинация диких животных и информационная работа с населением. Для стойкого уменьшения количества случаев бешенства в дикой и домашней фауне, а также для снижения рисков заболевания людей считаем необходимым дальнейшее расширение площадей оральной антирабической вакцинации, а также усиление контроля и интенсивности программы антирабической вакцинации домашних плотоядных животных.

Ключевые слова: обзор, Республика Беларусь, бешенство, домашние и дикие животные, профилактика, оральная вакцинация

Для цитирования: Субботина И. А., Даровских С. В., Лешкевич А. Л., Дорофейчик И. А., Ляховский А. К. Основы профилактики бешенства в Республике Беларусь (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 223–231. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-223-231>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Субботина Ирина Анатольевна, канд. вет. наук, проректор по учебной работе, доцент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «ВГАВМ», ул. 1-я Доватора, 7/11, г. Витебск, 210026, Республика Беларусь, irin150680@mail.ru

Basics of rabies prevention in the Republic of Belarus (review)

Irina A. Subotsina¹, Svetlana V. Darovskych¹, Anastasia L. Leshkevich², Igor A. Dorofeychik³, Alexander K. Lyakhovsky⁴

¹ Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 7/11 1st Dovatora str., Vitebsk 210026, Republic of Belarus

² Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, 50 Kazinca str., Minsk 220099, Republic of Belarus

³ Department of Veterinary and Food Supervision of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, 15 Kirova str., Minsk 220030, Republic of Belarus

⁴ OJSC «BelVitinipharm», 26A Sovetskaya str., Dolzha, Vitebsk Oblast, Republic of Belarus

ABSTRACT

Introduction. Rabies remains one of the most dangerous zoonotic diseases. The Republic of Belarus is affected by animal rabies and the disease is reported in all regions of the country.

Objective. The work was aimed at assessment of rabies situation in the Republic and summarizing up-to-date approaches to the disease diagnosis and prevention.

Results. Current data on rabies situation in animals and humans in the Republic of Belarus are presented. In the Republic of Belarus, rabies is commonly reported in wildlife and both the country territory and its neighbouring countries (Poland, Lithuania, Latvia, Ukraine, Russia). Wild carnivores, foxes, raccoon dogs and wolves are the main reservoir of rabies virus (70% of all reported cases). Domestic carnivores (cats, dogs) are the second rabies reservoir, and sporadic rabies cases are also reported in livestock animals. The main activities of the Veterinary and Sanitary-Epidemiological Service of the Republic of Belarus, including specific rabies prevention in domestic carnivores, oral rabies vaccination of wild carnivores and public awareness campaigns are described in the paper, historical and modern data

© Субботина И. А., Даровских С. В., Лешкевич А. Л., Дорофейчик И. А., Ляховский А. К., 2025

on the vaccination and its effectiveness, main strategies laid down in the Comprehensive Rabies Prevention Plan for 2021–2025 as well as data on the effectiveness of the specific activities included in the plan are presented.

Conclusion. In the Republic of Belarus, rabies remains a significant concern, particularly in wild animals. Key rabies control measures primarily involve the oral vaccination of wild animals and public awareness campaigns. To achieve a sustained reduction in rabies cases in wild and domestic animals and to minimize human exposure risks, the areas of wildlife oral vaccination shall be expanded, domestic carnivore vaccination programs shall be intensified and their control shall be enhanced.

Keywords: review, Republic of Belarus, rabies, domestic and wild animals, prevention, oral vaccination

For citation: Subotsina I. A., Darovskych S. V., Leshkevich A. L., Dorofeychik I. A., Lyakhovsky A. K. Basics of rabies prevention in the Republic of Belarus (review). *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 223–231. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-223-231>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Irina A. Subotsina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Vice-Rector for Academic Affairs, Associate Professor, Department of Epizootology and Infectious Diseases, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 7/11 1st Dovatora str., Vitebsk 210026, Republic of Belarus, irin150680@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Республика Беларусь является страной, неблагополучной по бешенству животных, заболевание регистрируется во всех ее регионах. Бешенство протекает в республике в виде эпизоотии природного типа, в которую Беларусь была вовлечена совместно с граничащими государствами (Польша, Литва, Латвия, Украина, Россия) [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Основным резервуаром вируса бешенства являются дикие плотоядные животные, удельный вес которых составляет более 70% от всех зарегистрированных случаев. Среди них большая часть приходится на лисиц, в эпизоотию также вовлечены енотовидные собаки и волки, постоянное поддержание высокой численности которых обусловлено благоприятными для этих видов природными условиями. На втором месте – домашние плотоядные (кошки, собаки), в единичных случаях – сельскохозяйственные животные. Но, несмотря на ежегодно регистрируемые случаи бешенства среди животных, следует отметить, что после 2012 г. случаев заболевания среди населения не регистрируется [3, 7, 8, 9, 10].

В целях профилактики в Беларуси ежегодно проводится обязательная иммунизация против бешенства домашних плотоядных животных (кошек и собак), сельскохозяйственных животных в неблагополучных пунктах. Вакцинации подвергаются лица, относящиеся к категории профессионального риска заражения (ветеринарные работники, специалисты, выполняющие работы по отлову безнадзорных животных, лесники, егеря, охотники и др.) [9, 11, 12, 13, 14].

Существенное влияние на ситуацию с бешенством в Республике Беларусь оказала оральная иммунизация диких плотоядных животных, которая проводится на постоянной основе начиная с 2004 г. Следует отметить, что на начальном этапе для вакцинации использовались куриные головы, в которые непосредственно вводилась вакцина. В 2007–2010 гг. вакцинация диких плотоядных животных велась на всей территории государства, а в 2010 г. ветеринарной службой страны принято решение осуществлять иммунизацию централизованно, были разработаны и внедрены в практику приманки, содержащие вакцину в блистере. С 2011 г. мероприятия по иммунизации велись вдоль границы

Республики Беларусь с Литвой, а с 2012 г. – с Латвией и Польшей.

В 2014 г. число случаев заболевания бешенством среди животных в целом по республике уменьшилось. В 2015 г. – увеличилось за счет необрабатываемых территорий Гомельской (230 случаев) и Могилевской (138 случаев) областей. В 2016 г. снова уменьшилось, но в 2017–2018 гг. отмечался рост заболеваемости бешенством, в 2019 г. было зарегистрировано 539, а в 2020 г. – 752 случая. Наибольшее количество зафиксировано в Могилевской (199), Минской (177) и Гомельской (168) областях. В Витебской области зарегистрировано 123 случая бешенства, в Брестской – 52. Наименьшее число – в Гродненской области (33). При анализе данных четко прослеживается зависимость количества заболевших животных в разных областях республики от наличия оральной вакцинации диких плотоядных [9, 11, 12]. В Республике Беларусь указанная работа носит очаговый характер и проводится в ограниченных объемах. При этом за последние два года оральная иммунизация диких плотоядных животных практически не проводилась в Гомельской и Могилевской областях, которые в течение последних лет традиционно являются лидерами по числу зарегистрированных случаев бешенства среди животных (так, в 2020 г. отмечался двукратный рост по сравнению с предыдущим годом, затем наблюдалось постепенное снижение). Иммунизация диких животных на территории Гродненской области, в том числе в рамках приграничного сотрудничества, позволила добиться снижения в 2020 г. числа случаев бешенства среди животных в регионе в 2,8 раза по сравнению с предыдущим годом, а к отчетному 2024 г. количество заболевших животных практически сведено к нулю [9, 10].

На территории Гродненской области, а также части Брестской и Витебской областей, граничащих со странами Евросоюза (около 56 тыс. км²), осуществляется ежегодная раскладка 2,75 млн приманок с вакциной (по 1377 тыс. весной и осенью). На сегодняшний день следует отметить стойкую тенденцию к уменьшению количества случаев бешенства среди диких животных, что связано в том числе и с ежегодно расширяющейся площадью оральной вакцинации диких плотоядных. Так, в Брестской и Витебской областях на протяжении 5 лет (с 2020 по 2024 г.) отмечается снижение числа

Таблица
Динамика заболеваемости бешенством животных при использовании оральной антирабической вакцинации

Table
Dynamics of rabies incidence in the regions where oral rabies vaccination is carried out

Регион	2020 г.	2024 г.
Брестская область	52 (39 дик. + 13 дом.)	9 (8 дик. + 1 дом.)
Витебская область	123 (73 дик. + 50 дом.)	28 (20 дик. + 8 дом.)
Гродненская область	33 (25 дик. + 8 дом.)	1 дик.

Дик. – дикие животные (wild animals); дом. – домашние животные (domestic animals).

случаев заболевания бешенством более чем в 4 раза, в Гродненской (где бешенство почти ликвидировано) – более чем в 30 раз (табл.).

В то же время в тех областях, где обработка не проводилась (Минская и Могилевская), или с минимальной ручной раскладкой приманок в отдельных районах (Гомельская область) число случаев регистрации бешенства в течение 2024 г. было намного выше, особенно в Минске и Минской области (75 случаев), Могилевской области (49 случаев).

В настоящее время для полного охвата территории республики оральной иммунизацией необходимо увеличение площади авиационной вакцинации диких плотоядных животных до 129 тыс. км². Подлежащая обработке территория Республики Беларусь составляет ориентировочно 185 тыс. км² с ежегодным разбрасыванием 8,52 млн приманок в год (по 4,26 млн весной и осенью) из расчета (24 ± 1) приманка на 1 км². Отдельно следует отметить, что для принятия решения о продолжении, корректировке либо прекращении оральной иммунизации диких плотоядных необходимо постоянно проводить оценку ее эффективности, и данному вопросу в республике уделяется достаточно пристальное внимание.

Комплексная схема (программа) проведения оценки эффективности оральной антирабической вакцинации диких плотоядных включает следующие ключевые моменты.

1. Учет масштаба (площади) территории, подвергающейся оральной антирабической вакцинации диких плотоядных.
2. Учет длительности сроков и непрерывности проведения оральной антирабической вакцинации диких плотоядных.
3. Выбор целевых (индикаторных) видов животных для проведения оценки эффективности оральной антирабической вакцинации диких плотоядных.
4. Проведение оценки эффективности и безопасности вакцин для оральной антирабической вакцинации.
5. Расчет и проведение оптимальной раскладки (схемы и количества) приманок с антирабической вакциной в местах обитания диких плотоядных животных.
6. Мониторинг с целью оценки результатов проведения оральной антирабической вакцинации диких плотоядных.
7. Внесение при необходимости корректировок в программу оральной вакцинации на основе результатов мониторинга.

Для проведения данной оценки эффективности перед ветеринарной службой страны ставятся следующие организационные задачи:

- определение объема выборки и зон отбора материала с целью мониторинга;
- определение источника финансирования и места проведения лабораторных исследований;
- определение порядка отбора проб: лиц, участвующих в отстреле животных, места хранения образцов, способа транспортировки до места проведения лабораторных исследований.

Задачами по проведению лабораторных исследований являются:

- проведение оценки уровня защищенности животных по определению наличия антирабических антител;
- проведение оценки поедаемости вакцинных приманок по выявлению (подсчету) количества животных, содержащих тетрациклиновый маркер в костной ткани (челюстная кость и зубы);
- проведение оценки уровня заболеваемости (количество больных животных, выявленных в ходе мониторинга, и количество выявленных случаев бешенства за год).

На основании проведенной оценки и выполнения вышеописанных задач подводятся итоги и делаются выводы о качестве проведенной вакцинации, необходимости ее корректировки или прекращении.

В ходе разработки программ оральной вакцинации определяют целевые виды животных – они являются основными векторами заболевания на конкретной территории и в дальнейшем используются как индикаторные в ходе мониторинга оральной вакцинации. На территории Республики Беларусь это лисы, волки и енотовидные собаки.

При отборе проб для мониторинга эффективности оральной вакцинации был определен размер выборки: 4 особи на 100 км² в год, то есть по 2 особи в весеннюю и осеннюю кампании (согласно резолюции «На пути к ликвидации бешенства в Евразии», 27–30 мая 2007 г.), при этом должен сохраняться принцип однородности (гомогенности) выборки [15].

Необходимо учитывать, что если нерепрезентативный отбор проб повторяется из года в год в сочетании с отсутствием тестов на антитела, то это может затруднить детальную оценку эффективности оральной вакцинации и принятие обоснованных решений о расширении или сокращении зон иммунизации. Также это может привести к ошибочному выводу об освобождении территории от бешенства в конце программы оральной вакцинации.

Департаментом ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь проведение лабораторного мониторинга эффективности оральной

вакцинации было возложено на лечебно-диагностическое учреждение «Витебская областная ветеринарная лаборатория» (ЛДУ «Витебская облветлаборатория») [9], аккредитованное по ГОСТ ISO/IEC 17025-2019¹ на показатели:

- обнаружение антител к вирусу бешенства в сыворотке, плазме крови или биологических жидкостях методом иммуноферментного анализа (ИФА);
- обнаружение маркера (тетрациклина) в зубных спилах диких плотоядных животных;
- обнаружение комплекса антиген – антитело методом флуоресцирующих антител (МФА).

Для обеспечения системы качества ЛДУ «Витебская облветлаборатория» в 2021 г. приняла участие в международном сличительных исследованиях по показателям:

- обнаружение антител к вирусу бешенства в сыворотке крови плотоядных животных по программе проверки квалификации (организатор – VETQAS, Animal & Plant Health Agency, Великобритания);
- обнаружение маркера (тетрациклина) в зубных спилах плотоядных животных (организатор – ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», Россия).

Лабораторные исследования по диагностике бешенства проводятся в соответствии с ГОСТ 26075-2013²; методическими указаниями по определению антител к вирусу бешенства в сыворотке, плазме крови или биологических жидкостях методом ИФА³ и по обнаружению маркера (тетрациклина) в зубных спилах диких плотоядных животных⁴.

При мониторинге эффективности оральной вакцинации особое внимание уделяется сохранности проб, отобранных для лабораторных исследований непосредственно ветеринарной службой, но совместно с представителями охотхозяйств (охотниками, егерями) или специалистами по охране природы (лесниками). Для лабораторных исследований берут спил нижней челюсти с клыками и резцами, биологические жидкости животного (кровь, транссудат, торакальную жидкость).

Поедаемость оральной антирабической вакцины определяют флуоресцентным методом: в зубах и костной ткани нижней челюсти выявляют маркер (тетрациклин), содержащийся в приманках. Хранение и транспортировку исследуемого материала (нижняя челюсть с клыками и резцами) осуществляют в замороженном виде.

При учете поедаемости приманок принимают во внимание факт влияния возраста. Метка тетрациклина пожизненна, из-за этого сложно понять, насколько недавно иммунизировано животное. Доля тетрациклин-положительных результатов обычно выше у взрослых особей, чем у молодых. Выделив популяцию молодых особей, можно сделать вывод о результативности последней вакцинации. Однако в связи с тем, что большую долю популяции занимают именно молодые особи, определением возраста часто пренебрегают.

Оценка уровня защищенности животных (серопревалентность) проводится путем определения количества вируснейтрализующих антител (в МЕ/мл). И здесь необходимо учитывать, что защитным уровнем (определенным в реакции нейтрализации), гарантированно предохраняющим от заражения вирусом бешенства, принято считать 0,5 МЕ/мл. Для ликвидации бешенства доля защищенных животных (целевых видов) в популяции должна быть не меньше 70%. При таком уровне в результате контактов больного животного с иммунизированными против бешенства заражение не наступает. Когда коэффициент передачи вируса опускается ниже единицы, эпизоотия затухает. Важно, чтобы уровень защищенности (напряженности иммунитета) животных на вакцинируемой территории был одинаковым, так как участки с небольшим количеством иммунизированных животных могут выступить в роли стойких природных очагов инфекции, и затем, после прекращения оральной вакцинации, инфекция распространится на остальные территории.

Большое значение имеет качество отбора образцов биологического материала для лабораторной диагностики. Основным биоматериалом для исследований на бешенство является головной мозг животного, важнейшие его отделы: продолговатый мозг и мозжечок, а также аммоновы рога и кора головного мозга.

Рекомендованным методом хранения биологического материала является консервация в замороженном или охлажденном виде, в крайнем случае в забуференном физиологическом растворе с формалином (10%), однако такой способ может повлиять на качество результатов исследования, а вирусыведение будет невозможно. Также допускается консервация в забуференном физиологическом растворе с глицерином (50%), но этот способ также сказывается на качестве результатов [16, 17].

В ЛДУ «Витебская облветлаборатория» проводятся следующие исследования: МФА, выделение вируса на мышах (биопроба), ИФА, реакция нейтрализации.

Преимуществами МФА (другие названия: РИФ – реакция иммунофлуоресценции, DFA – прямой метод флуоресцирующих антител / direct fluorescent antibody test) являются быстрота выполнения (2–3 ч), высокая чувствительность и специфичность, относительная дешевизна. Среди недостатков: отсутствие инструментального учета (субъективность оценки результатов).

Метод выделения вируса на мышах (биопроба) отличается высокой чувствительностью и специфичностью при исследовании свежего, неиспорченного материала, но имеет и недостатки: длительность постановки (до 30 дней); высокая стоимость; низкая чувствительность при работе с несвежим патологическим материалом (возможно получение ложноотрицательных результатов); повышенная опасность для исследователя (работа с инфицированными животными и шприцем) и для окружающей среды; негативное отношение общества к опытам на животных. Необходимо отметить, что данный метод выявляет только активный вирус бешенства, поэтому при инаktivации возбудителя результаты его выделения будут различаться с результатами методов выделения антигена и генома. Кроме того, в случае токсичности биоматериала получение результата может быть невозможно. Подтверждение гибели мышей именно от бешенства проводят методом МФА.

Достоинствами ИФА (ELISA), заключающегося в выявлении антигена, являются: высокая специфичность;

¹ <https://nil39.ru/docs/GOST-17025.pdf>

² <https://docs.cntd.ru/document/1200104625>

³ Методические указания по определению антител к вирусу бешенства в сыворотке, плазме крови или биологических жидкостях методом ИФА: утв. 12.05.2021 ЛДУ «Витебская областная ветеринарная лаборатория».

⁴ Методические указания. Обнаружение маркера (тетрациклина) в зубных спилах диких плотоядных животных: утв. 11.06.2021 ЛДУ «Витебская областная ветеринарная лаборатория».

возможность исследования большого количества проб патологического материала за короткий срок; простота постановки реакции; инструментальный учет результатов; возможность исследования несвежего (разлагающегося) патологического материала без потери чувствительности. Но в то же время ИФА обладает более низкой чувствительностью при исследовании свежего патологического материала, чем МФА. Однако Всемирной организацией здравоохранения животных (ВОЗЖ) данный метод диагностики бешенства рекомендован только при условии подтверждения результата другими методами из-за его низкой чувствительности.

Оценка антирабического иммунитета с целью определения эффективности оральной вакцинации проводится с помощью реакции нейтрализации (РН, RFFIT), главным достоинством которой является возможность определения наличия в количественном отношении вируснейтрализующих антител – «золотой стандарт». При этом данная реакция также не лишена недостатков. К ним относятся: длительность постановки (несколько дней); высокие требования к квалификации персонала и опыту работы; необходимость постоянно поддерживать культуру клеток; достаточно высокая стоимость исследования; вероятное токсическое воздействие материала на культуру клеток; использование при постановке фиксированного вируса бешенства.

При проведении оценки уровня заболеваемости бешенством среди диких животных необходимо учитывать, что мониторинг тесно связан с эпизоотологическим надзором, – это ключевые элементы программ оральной вакцинации. Уменьшение числа зарегистрированных случаев бешенства является наиболее важным признаком эффективности программы оральной вакцинации (при условии, что пассивный надзор проводится непрерывно и лабораторным исследованиям на бешенство подвергают всех подозреваемых в заражении животных).

Решение о прекращении оральной антирабической вакцинации будет принято лишь в случае отсутствия регистрации случаев заболевания в течение не менее двух лет.

Эпизоотическая ситуация по бешенству постоянно держит в напряжении и санитарно-эпидемиологическую службу Министерства здравоохранения Республики Беларусь [10, 13, 18]. Изменение активности эпизоотии отражается на числе контактов людей с больными бешенством животными, в том числе массовых (с количеством пострадавших от 5 человек). Ежегодно за оказанием антирабической помощи вследствие контакта с животными обращаются порядка 18–20 тыс. человек, из них по контакту с больными бешенством животными – 400–700 человек. В 2024 г. наибольшее число обращений регистрировалось в Минской и Могилевской областях, минимальное – в Гродненской области [10, 18, 19, 20].

Обеспечение гарантированной безопасности населения с учетом наблюдающегося роста числа случаев бешенства среди животных, в том числе среди диких плотоядных как основного резервуара инфекции, возможно лишь в результате подавления очагов природного бешенства, главным образом путем проведения массовой оральной иммунизации данной категории животных.

Решение проблемы профилактики бешенства требует постоянных скоординированных действий за-

интересованных министерств и ведомств, органов исполнительной власти, научно-исследовательских учреждений. Объединение усилий этих организаций возможно лишь в результате реализации межведомственного подхода, исходя из этого был разработан Комплексный план мероприятий по профилактике бешенства в Республике Беларусь в 2021–2025 гг.⁵ (далее – Комплексный план мероприятий), который был утвержден в 2021 г. (№ 06/204-211/321). Одной из основных задач этого плана была определена организация иммунизации диких плотоядных животных против бешенства.

Целью Комплексного плана мероприятий является профилактика заболевания как среди диких, так и среди домашних животных, а также обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, недопущение заболевания людей путем снижения до единичных случаев эпизоотической активности природного бешенства вследствие вакцинации диких плотоядных животных; предупреждение инфицирования домашних, а также сельскохозяйственных животных путем проведения специфической профилактики болезни; уменьшение числа лиц, пострадавших от контакта с животными, в том числе больными бешенством, что приведет к сокращению числа лиц, подлежащих лечебно-профилактической иммунизации против бешенства.

Согласно Комплексному плану мероприятий ответственные ведомственные службы (Министерство сельского хозяйства и продовольствия, Министерство здравоохранения, Министерство природы, Министерство лесного хозяйства, Министерство жилищно-коммунального хозяйства, областные и районные исполнительные комитеты Республики Беларусь) должны проводить ряд мероприятий, основными из которых определены следующие:

- проведение учета численности диких плотоядных на единицу площади в разрезе территорий, арендуемых пользователями охотничьих угодий, в том числе: лисиц, енотовидных собак, волков;
- отслеживание эпизоотической ситуации по бешенству в мире, в том числе на приграничных территориях;
- ведение картографирования плотности расселения диких плотоядных животных в разрезе территорий, арендуемых пользователями охотничьих угодий;
- осуществление закупки вакциносодержащих блистер-приманок для оральной иммунизации диких плотоядных животных в соответствии с обрабатываемой территорией;
- проведение инструктажа лиц, осуществляющих оральную иммунизацию диких плотоядных животных;
- распространение вакциносодержащих блистер-приманок на территории республики, подлежащей обработке, с использованием авиации и регистрацией координат выброса приманки;
- проведение контрольного отстрела диких плотоядных животных – природных резервуаров бешенства на обработанной территории из расчета не менее 2 особей на 100 км² территории охотничьих хозяйств с доставкой проб в диагностические отделы районных ветеринарных станций (с учетом численности);

⁵ https://s3-minsk.cloud.mts.by/datastorage/belitsa/library/321_План_о_профилактике_бешенства.pdf

- организация отбора и доставки в лаборатории проб патологического материала (челюсти и кровь) от животных, отстрелянных в рамках мониторинга и контроля качества вакцинации;
- проведение лабораторных исследований материала (кровь – на наличие антител, челюсти – на наличие маркеров) от отстрелянных животных;
- обеспечение отбора и доставки проб биологического материала (головного мозга павших животных, подозрительных в заражении вирусом бешенства) для проведения лабораторных исследований с целью проведения мониторинга и учета случаев заболевания бешенством;
- обеспечение проведения лабораторных исследований проб головного мозга павших животных, подозрительных в заражении вирусом бешенства, с целью проведения мониторинга и учета случаев заболевания бешенством животных;
- обеспечение отлова безнадзорных собак и кошек в населенных пунктах;
- обеспечение условий, препятствующих проникновению диких и безнадзорных животных на территорию, в помещения организаций;
- проведение полного учета домашних животных (собак и кошек) с обновлением данных с периодичностью один раз в год;
- обеспечение контроля соблюдения населением правил содержания домашних и сельскохозяйственных животных в домовладениях и сельскохозяйственных организациях;
- осуществление закупки антирабической вакцины для парентерального применения для иммунизации домашних и сельскохозяйственных животных;
- обеспечение проведения вакцинации домашних животных (собак и кошек) против бешенства;
- создание в областях и г. Минске неснижаемого постоянно обновляющегося запаса антирабической вакцины и иммуноглобулина из расчета одновременной потребности не менее чем на 20 человек;
- обеспечение оказания антирабической помощи лицам, пострадавшим от контакта с животными;
- обеспечение формирования списков лиц с высоким риском инфицирования вирусом бешенства (ветеринарные работники, охотники, лесники, лица, выполняющие работы по отлову и содержанию безнадзорных животных, и другие) с представлением указанных списков в адрес территориальных организаций здравоохранения, а также органов и учреждений осуществляющих государственный санитарный надзор;
- проведение профилактической иммунизации лиц с высоким риском инфицирования вирусом бешенства;
- обеспечение информирования через средства массовой информации (в том числе с использованием интернет-ресурсов) различных возрастных и профессиональных групп населения о мерах профилактики бешенства, в том числе: особенностях инфекционного процесса при бешенстве, действиях в случае контакта с животными, в том числе больными либо подозрительными на заболевание бешенством, последствиях отказа от иммунизации либо самовольного прерывания курса прививок, а также о правилах содержания домашних и сельскохозяйственных животных, в том числе необходимости своевременной их регистрации и вакцинации против бешенства.



Рис. 1. Скармливание приманки для оральной иммунизации волкам

Fig. 1. Feeding oral immunization baits to wolves

Еще одним направлением работы ветеринарной службы республики является постоянный контроль и при необходимости совершенствование специфической профилактики бешенства среди диких плотоядных животных зоопарков, бродячих животных и животных приютов. Особенностью данной категории животных является их достаточно высокая степень опасности для персонала и в ряде случаев неопределенные анамнестические данные по вакцинации против бешенства. В таких условиях проводить специфическую профилактику бешенства парентеральным путем достаточно опасно и затруднительно. В связи с этим на сегодняшний день проводится анализ и оценка существующих методов вакцинации против бешенства плотоядных животных из приютов, зоопарков, работа по совершенствованию приманок с антирабической вакциной и оценке эффективности их применения в условиях зоопарков и приютов (рис. 1 и 2).

Для улучшения эпизоотической ситуации и экономической целесообразности в настоящее время ведется работа по модернизации различных форм приманок для плотоядных и диких животных, обитающих в приютах и зоопарках, а также бродячих. Экспериментальные варианты приманок разрабатываются специалистами ОАО «БелВитунифарм». За основу (прототип) была взята и модернизирована антирабическая вакциносодержащая приманка «Рабивит-ВБФ» серия № 19 (22 г), изменена ее форма, размер и состав. Новые виды приманок были экспериментально испробованы на различных группах животных с целью выявления наиболее эффективной формы для скармливания. Испытания проводились в условиях Витебского зоопарка и витебского приюта для бездомных животных «Добрик», где приманки для орального применения были скармливаемы волкам, лисицам, енотовидным собакам, домашним собакам и кошкам.



Рис. 2. Скармливание приманки для оральной иммунизации лисицам

Fig. 2. Feeding oral immunization baits to foxes

При проведении собственных исследований по оценке эффективности оральной антирабической вакцинации получены следующие результаты.

1. По данным камер видеонаблюдения выявлено, что все модернизированные приманки старого и нового образца животные начали активно поедать в течение первых двух суток, отдавая предпочтение новым модифицированным.

2. Зафиксировано, что дикие животные (особенно лисы) не съедают приманку на месте раскладки, а переносят ее в другие места для последующего поедания, что является важным фактором при визуальной оценке поедаемости.

3. В эксперименте, проведенном в условиях, близких к естественным, природным, на территории Витебского зоопарка средняя поедаемость всех образцов приманок с новой рецептурой была высокой и составила 82%.

4. Установлено, что при неблагоприятных погодных условиях (обильные осадки) форма исследуемых приманок не нарушилась. Больше количество приманок животных поедалось в вечернее и ночное время.

Полученные результаты экспериментальных исследований свидетельствовали, что большинство видов модифицированных приманок могут использоваться при оральной вакцинации против бешенства плотоядных и диких животных в Республике Беларусь. Внедрение приманок с новым рецептурным составом экономически целесообразно и может способствовать повышению эффективности оральной антирабической иммунизации диких плотоядных животных на территории республики.

По данным Министерства здравоохранения Республики Беларусь, одной из тревожных тенденций последних лет стали массовые контакты населения с бешеными животными в различных регионах страны: чаще – с домашними собаками и кошками, мелким и крупным рогатым скотом, реже – с дикими животными (лисами, енотовидными собаками, ежами). И если

в сельском хозяйстве массовые контакты связаны больше с производственными ситуациями, то в случае с домашними и дикими животными – с небрежным отношением людей, отсутствием понимания серьезности ситуации и потенциальной угрозы особо опасного заболевания – бешенства. Особенно следует отметить современную эпидемию у населения – «эпидемию селфи». Именно безрассудное желание сделать фото с диким животным (а не отсутствие знаний о данной болезни) в ряде случаев приводит к массовым контактам с бешеными животными. Вторым фактором, способствующим заражению домашних животных и являющимся наиболее распространенной причиной массовых контактов с бешеными домашними животными, стали частые отказы населения от вакцинации домашних питомцев. Причина – так называемый домашний образ жизни животного и отсутствие (полное либо частичное, со слов хозяев) контакта с окружающей средой и другими животными. Игнорирование потенциальных рисков заражения животных на фоне возможных и произошедших контактов с дикими либо бродячими животными приводит как к заражению домашних животных, так и к массовым контактам населения с ними.

Рост численности диких животных (копытных – оленей, косуль; плотоядных, всеядных – лисиц, енотовидных собак, волков, рысей, медведей) в ряде областей (районов) Республики Беларусь также является способствующим фактором и увеличивает риски распространения бешенства среди животных, повышая тем самым уровень данной биологической угрозы для населения, особенно для охотников, егерей, лесников, работников заповедников и национальных парков, зоологов и иных групп населения, чья научная либо трудовая деятельность сопряжена с дикой фауной.

Отдельно также хочется обратить внимание на интенсификацию проводимой информационной работы по вопросам профилактики бешенства среди различных возрастных и производственных групп населения,

в первую очередь среди детей. Прежде всего это ученики школ начиная с младших классов, которые наиболее уязвимы. Это личные встречи специалистов гуманной и ветеринарной медицины с родителями, а также информирование через средства массовой информации.

Для наиболее легкого и доступного понимания важности и опасности бешенства для различных категорий населения (возрастных и профессиональных) разрабатываются информационные материалы (постеры, презентации, обучающие фильмы). Также подбираются различные докладчики: для детей информационные занятия проводят студенты, магистранты либо аспиранты УО «ВГАВМ», а для взрослых – представители государственной ветеринарной службы и работники эпидемиологической службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Такое разделение позволяет найти наилучший подход к целевой аудитории и максимально доступно преподнести информацию о проблеме бешенства [10].

Особое внимание уделяется также информационной работе с владельцами домашних животных и контролю за регистрацией и вакцинацией питомцев посредством коммунальных служб и государственной ветеринарной службы. Основной акцент при работе с данной группой населения делается на разъяснении правил содержания домашних животных, в том числе необходимости своевременной их регистрации и вакцинации против бешенства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в Республике Беларусь проблема бешенства остается актуальной, в первую очередь она касается дикой фауны. С учетом возрастающей плотности копытных, плотоядных и всеядных диких животных увеличиваются риски заболевания бешенством как сельскохозяйственных и домашних животных, так и населения. Ведется постоянная интенсивная работа по профилактике бешенства. основополагающими мероприятиями являются оральная антирабическая вакцинация диких животных и информационная работа с населением. Для стойкого уменьшения количества случаев бешенства в дикой и домашней фауне, а также для снижения рисков заболевания населения считаем необходимым дальнейшее расширение площадей оральной антирабической вакцинации и итоговое вовлечение всей территории Республики Беларусь в кампанию по вакцинации. Параллельно с расширением площади оральной антирабической вакцинации диких плотоядных животных необходимо усилить контроль и интенсивность программы антирабической вакцинации домашних плотоядных животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабак В. А., Гусев А. А. Бешенство диких животных в Беларуси. *Экология и инновации: материалы VII Международной научно-практической конференции (г. Витебск, 22–23 мая 2008 г.)*. Витебск: ВГАВМ; 2008; 15–16. <https://repo.vsvam.by/handle/123456789/15959>
2. Полещук Е. М., Сидоров Г. Н., Сидорова Д. Г., Колычев Н. М. Бешенство в Российской Федерации: информационно-аналитический бюллетень. Омск: ООО «Полиграфический центр КАН»; 2009. 49 с. <https://elibrary.ru/xgcfdz>
3. Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2022. 442 с.
4. Хисматуллина Н. А., Гулюкин А. М., Кулакова С. Р., Амирова И. В. Совершенствование мер борьбы с бешенством в Смоленской области. *Ветеринария*. 2011; (4): 24–27. <https://elibrary.ru/ntiaez>

5. Шабейкин А. А., Гулюкин А. М., Зайкова О. Н. Обзор эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации за период с 1991 по 2015 годы. *Ветеринария Кубани*. 2016; (4): 4–6. <https://elibrary.ru/wiqqtqx>

6. Иванов А. В., Хисматуллина Н. А., Чернов А. Н. Эпизоотолого-эпидемиологический надзор за бешенством: методическое руководство. Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»; 2006. 95 с. <https://elibrary.ru/dllswe>

7. Ятусевич А. И., Семенов В. М., Максимович В. В., Карасев Н. Ф., Миرونенко В. М., Багдасаров В. Ф. Заразные болезни, общие для животных и человека: справочное пособие. Витебск: ВГАВМ; 2011. 480 с. <https://elibrary.ru/uhejtz>

8. Семенов В. М., Максимович В. В., Субботина И. А. Животное – человек: эстафета инфекционных заболеваний. *Современные проблемы инфекционной патологии у животных и людей: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней животных (Витебск, 23–24 октября 2017 г.)*. Витебск: ВГАВМ; 2017; 49–63. <https://elibrary.ru/yvnttg>

9. Ветеринарно-санитарные правила профилактики, диагностики и ликвидации бешенства: постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 25 июня 2018 г. <https://mshp.gov.by/ru/technical-acts-ru/view/veterinarno-sanitarnye-pravila-profilaktiki-dagnostiki-i-likvidatsii-beshenstva-4037>

10. Бешенство: профилактика и меры предосторожности. https://minzdrav.gov.by/ru/novoe-na-sayte/detail.php?ID=335387&spphrase_id=653483

11. Красочко П. А., Ковалев Н. А., Насонов И. В., Ястребов А. С., Бучукури Д. В., Усень М. М. и др. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси. Минск: Белорусская наука; 2016. 497 с. <https://elibrary.ru/ysmvuj>

12. Люб Чжиги, Сафар заде Гамид Рафиг оглы, Субботина И. А. Мониторинг эффективности оральной антирабической вакцинации. *Сборник научных статей по материалам XVIII Международной студенческой научной конференции (Гродно, 12 мая 2022 г.)*. Гродно: ГТАУ; 2022; 55–56. <https://repo.vsvam.by/handle/123456789/22360>

13. Основные направления деятельности санитарно-эпидемиологической службы на 2025 год. <http://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/sanitarnaya-sluzhba/napravleniya-deyatelnosti.php>

14. Комплекс совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 года: утв. решением Совета глав правительств Содружества Независимых Государств 1 июня 2018 г. https://base.garant.ru/71967074/#block_1000

15. На пути к ликвидации бешенства в Евразии: резолюция. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Conferences/Events/sites/rabies2007/files/R_Rabies_Final_Resolution.pdf

16. Громов И. Н., Прудников В. С., Красочко П. А., Мотузко Н. С., Субботина И. А., Журов Д. О. и др. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных: рекомендации. 2-е изд., перераб. и доп. Витебск: ВГАВМ; 2022. 64 с. <https://elibrary.ru/qdobvv>

17. WOAH. Codes and Manuals. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals>

18. Осторожно! Бешенство! <http://cgeud.by/2025/03/28/бешенство>

19. Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. <https://pravo.by>

20. Концепция национальной системы обеспечения биологической безопасности: утв. Постановлением Совета Министров Республики Беларусь № 161 от 22.03.2022. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/blr212336.pdf>

REFERENCES

1. Babak V. A., Gusev A. A. Beshenstvo dikikh zhivotnykh v Belarusi = Rabies in wildlife in Belarus. *Ekologiya i innovatsii: materialy VII Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Vitebsk, 22–23 maya 2008 g.)* = Ecology and innovations: proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference (Vitebsk, 22–23 May 2008). Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine; 2008; 15–16. <https://repo.vsvam.by/handle/123456789/15959> (in Russ.)
2. Poleshchuk E. M., Sidorov G. N., Sidorova D. G., Kolychev N. M. Rabies in the Russian Federation: information and analytical bulletin. Omsk: Polygraphic center of KAN; 2009. 49 p. <https://elibrary.ru/xgcfdz> (in Russ.)
3. Gruzdev K. N., Metlin A. Ye. Animal Rabies. 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: Federal Centre for Animal Health; 2022. 442 p. (in Russ.)
4. Khismatullina N. A., Gulyukin A. M., Kulakova S. R., Amirova I. V. Rabies epizootic situation features and its control measures improvement in Smolensk area. *Veterinariya*. 2011; (4): 24–27. <https://elibrary.ru/ntiaez> (in Russ.)
5. Shabeykin A. A., Gulyukin A. M., Zaikova O. N. Overview on epizootic situation on rabies in the Russian Federation for the period from 1991 to 2015. *Veterinariya Kubani*. 2016; (4): 4–6. <https://elibrary.ru/wiqqtqx> (in Russ.)

6. Ivanov A. V., Khismatullina N. A., Chernov A. N. Epizootological and epidemiological surveillance of rabies: methodical guidelines. Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety; 2006. 95 p. <https://elibrary.ru/dllswe> (in Russ.)

7. Yatusevich A. I., Semenov V. M., Maksimovich V. V., Karasev N. F., Mironenko V. M., Bagretsov V. F. Contagious zoonotic diseases: handbook. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine; 2011. 480 p. <https://elibrary.ru/uhejtz> (in Russ.)

8. Semenov V. M., Maksimovich V. V., Subotsina I. A. Zhivotnoe – chelovek: estafeta infektsionnykh zaboolevaniy = Animals – humans: chain of infections. *Sovremennye problemy infektsionnoi patologii u zhivotnykh i lyudei: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 90-letiyu kafedry epizootologii i infektsionnykh boleznei zhivotnykh (Vitebsk, 23–24 oktyabrya 2017 g.) = Modern aspects of infectious pathology in animals and humans: proceedings of the International Scientific and Practical Conference devoted to the 90th anniversary Epizootology and Animal Infectious Disease Department (Vitebsk, 23–24 October, 2017)*. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine; 2017; 49–63. <https://elibrary.ru/yvnttg> (in Russ.)

9. Veterinary and Sanitary Rules for Rabies Prevention, Diagnosis and Eradication: Ordinance of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus of 25 June 2018. <https://mshp.gov.by/ru/technical-acts-ru/view/veterinarno-sanitarnye-pravila-profilaktiki-dagnostiki-i-likvidatsii-beshenstva-4037> (in Russ.)

10. Rabies: prevention and precautions. https://minzdrav.gov.by/ru/novoe-na-sayte/detail.php?ID=335387&phrase_id=653483 (in Russ.)

11. Krasochko P. A., Kovalev N. A., Nasonov I. V., Yastrebov A. S., Buchukuri D. V., Usenya M. M., et al. Biological products for viral animal disease prevention: development and manufacturing in Belarus. Minsk: Belorusskaya nauka; 2016. 497 p. <https://elibrary.ru/ysmvuj> (in Russ.)

12. Lyui Chzhigo, Safar zade Gamid Rafig ogly, Subotsina I. A. Monitoring effektivnosti oral'noi antirabicheskoi vaktsinatsii = Monitoring of oral

rabies vaccination effectiveness. *Sbornik nauchnykh statei po materialam XXIII Mezhdunarodnoi studencheskoi nauchnoi konferentsii (Grodno, 12 maya 2022 g.) = XXIII International Scientific Conference for Students: Collection of papers (Grodno, 12 May 2022)*. Grodno: Grodno State Agrarian University; 2022; 55–56. <https://repo.vsbm.by/handle/123456789/22360> (in Russ.)

13. Main activities of the Sanitary-Epidemiological Service for 2025. <http://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/sanitarnaya-sluzhba/napravleniya-deyatelnosti.php> (in Russ.)

14. CIS Action Plan for rabies prevention and control up to 2025: approved by the Decision of the Council of Heads of Government of the Commonwealth of Independent States on 1 June 2018. https://base.garant.ru/71967074/#block_1000 (in Russ.)

15. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia: Resolution. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/a-rabies-final-resolution.pdf>

16. Gromov I. N., Prudnikov V. S., Krasochko P. A., Motuzko N. S., Subotsina I. A., Zhurov D. O., et al. Collection of samples for diagnosis of bacterial and viral animal diseases: recommendations. 2nd ed., revised and supplemented. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine; 2022. 64 p. <https://elibrary.ru/qdobvv> (in Russ.)

17. WOAH. Codes and Manuals. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals>

18. Caution! Rabies! <http://cgeud.by/2025/03/28/бешенство>

19. National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus. <https://pravo.by>

20. Concept of the national biosafety system: approved by the Resolution No. 161 of the Council of Ministers of the Republic of Belarus of 22 March 2022. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/blr212336.pdf> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 04.07.2025

Поступила после рецензирования / Revised 13.08.2025

Принята к публикации / Accepted 05.09.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Субботина Ирина Анатольевна, канд. вет. наук, проректор по учебной работе, доцент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней, УО «ВГАВМ», г. Витебск, Республика Беларусь; <https://orcid.org/0000-0001-8346-2988>, irin150680@mail.ru

Даровских Светлана Викторовна, канд. вет. наук, проректор по научной работе, доцент кафедры микробиологии и вирусологии, УО «ВГАВМ», г. Витебск, Республика Беларусь; <https://orcid.org/0000-0001-5810-5540>, microb.s.v17@gmail.com

Лешкевич Анастасия Леонидовна, заведующий отделением особо опасных болезней ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь; <https://orcid.org/0009-0000-7796-0657>, leana18@mail.ru

Игорь Александрович Дорофейчик, заместитель директора Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, г. Минск, Республика Беларусь; mail@dvpn.gov.by

Александр Константинович Ляховский, директор унитарного предприятия «Научно-исследовательский институт БиоФарм» при ОАО БелВитунифарм, д. Должа, Витебская область, Республика Беларусь; <https://orcid.org/0009-0002-0542-5924>, oaobvu@tut.by

Irina A. Subotsina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Vice-Rector for Academic Affairs, Associate Professor, Department of Epizootology and Infectious Diseases, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus; <https://orcid.org/0000-0001-8346-2988>, irin150680@mail.ru

Svetlana V. Darovskych, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Vice-Rector for Scientific Work, Associate Professor, Department of Microbiology and Virusology, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus; <https://orcid.org/0000-0001-5810-5540>, microb.s.v17@gmail.com

Anastasia L. Leshkevich, Head of the Department for Highly Dangerous Diseases, Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Republic of Belarus; <https://orcid.org/0009-0000-7796-0657>, leana18@mail.ru

Igor A. Dorofeychik, Deputy Director, Department of Veterinary and Food Control of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, Minsk, Republic of Belarus; mail@dvpn.gov.by

Alexander K. Lyakhovsky, Director, Unitary Enterprise “BioPharm Research Institute”, OJSC “BelVitonipharm”, Dolzha, Vitebsk Oblast, Republic of Belarus; <https://orcid.org/0009-0002-0542-5924>, oaobvu@tut.by

Вклад авторов: Субботина И. А. – идея и написание текста, утверждение окончательного варианта статьи; Даровских С. В., Лешкевич А. Л., Дорофейчик И. А., Ляховский А. К. – анализ литературы, редактирование статьи.

Contribution of the authors: Subotsina I. A. – conceptualization; paper text preparation and finalization; Darovskych S. V., Leshkevich A. L., Dorofeychik I. A., Lyakhovsky A. K. – literature analysis, paper editing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-232-240>
УДК 619:616.98:578.824.11:616-036.22(470)



Обзор современной эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации. Динамика изменений за 35-летний период, закономерности, влияющие факторы

А. М. Гулюкин, А. А. Шабейкин

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Рязанский проспект, 24/1, г. Москва, 109428, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. На территории Российской Федерации регистрируются эпизоотии бешенства природного типа, которые характеризуются стабильно высокой инцидентностью среди диких и домашних животных. Непрерывность эпизоотического процесса бешенства обеспечивается биологической резервацией вируса *Lyssavirus rabies* в популяциях диких хищников семейства псовых, преимущественно в популяции рыжей лисицы (*Vulpes vulpes*). Экология и этология лисиц определяют территорию распространения бешенства, сезонную динамику инцидентности и видовой состав животных, вовлекаемых в эпизоотический процесс.

Цель исследования. Проведение пространственно-временного анализа данных мониторинга бешенства за 35-летний период для исследования факторов, определяющих особенности современной эпизоотической ситуации.

Материалы и методы. На платформе реляционной системы управления базами данных Microsoft Access (www.microsoft.com) были агрегированы данные о вспышках бешенства на территории Российской Федерации, о проведении антирабической вакцинации среди диких животных, а также о природно-сельскохозяйственном районировании. Для выполнения пространственного анализа вся эпизоотологическая информация базы данных была геокодирована и представлена в виде наборов векторных карт в тематическом проекте геоинформационной системы. Построение ГИС-проекта проводилось на платформе QGIS Desktop (www.qgis.org).

Результаты. Современный нозоареал бешенства охватывает территорию, которая затрагивает большую часть регионов Российской Федерации. Основная зона стабильно высокой инцидентности бешенства приходится на биомы лесостепей, смешанных и широколиственных лесов Восточно-Европейской равнины. На территории Российской Федерации максимальное количество случаев бешенства регистрируется среди лисиц. Эпизоотии бешенства в природных экосистемах сопровождаются эффектом «перелива» (spillover effect) с активным распространением болезни среди различных видов домашних животных. Основную группу эпизоотологического риска составляют собаки, кошки и крупный рогатый скот. Оральная антирабическая вакцинация диких хищников обеспечила формирование выраженного тренда на снижение заболеваемости животных бешенством с одновременным уменьшением амплитуды колебаний кривой инцидентности в периоды многолетних эпизоотических циклов.

Заключение. Регистрируемое снижение инцидентности бешенства на территории Российской Федерации не сопровождается значимым уменьшением площади нозоареала. Это свидетельствует о необходимости коррекции проводимых противоэпизоотических мероприятий с разработкой программы по обеспечению полной элиминации циркулирующих полевых штаммов *Lyssavirus rabies* из неблагоприятных экосистем.

Ключевые слова: эпизоотический процесс, бешенство, *Lyssavirus rabies*, нозоареал, резервуар вируса, база данных, геоинформационная система, пространственный анализ

Благодарности: Исследование выполнено в рамках государственного задания по теме FGUG-2025-0005.

Для цитирования: Гулюкин А. М., Шабейкин А. А. Обзор современной эпизоотической ситуации по бешенству в Российской Федерации. Динамика изменений за 35-летний период, закономерности, влияющие факторы. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 232–240. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-232-240>

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для корреспонденции: Шабейкин Александр Александрович, д-р вет. наук, заведующий лабораторией общей эпизоотологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Рязанский проспект, 24/1, г. Москва, 109428, Россия, viev@mail.ru

Rabies in the Russian Federation: A 35-year review of trends, patterns, and influencing factors

Alexey M. Gulyukin, Alexander A. Shabeykin

Federal Scientific Centre VIEV, 24/1 Ryazansky prospekt, Moscow 109428, Russia

ABSTRACT

Introduction. Sylvatic rabies cases characterized by a consistently high incidence among wild and domestic animals are reported in the Russian Federation. The epizootic cycle of rabies is maintained through the biological reservoir of *Lyssavirus rabies* in wild canid predators, primarily the red fox (*Vulpes vulpes*). Fox ecology and behavior determine the spatial spread of rabies, its seasonal incidence patterns, and the species composition of animals involved in the epizootic cycle.

Objective. The rabies spatiotemporal analysis of 35-year monitoring data to study determinants and patterns of the current disease situation.

© Гулюкин А. М., Шабейкин А. А., 2025

Materials and methods. Using Microsoft Access (relational database management system www.microsoft.com) the data on rabies outbreaks in the Russian Federation, rabies vaccination among wild animals and natural and agricultural zoning were aggregated. For spatial analysis, all epizootiological data were geocoded and visualized as vector map layers within the GIS thematic project. The GIS project was constructed using QGIS Desktop platform (www.qgis.org).

Results. The current rabies distribution area covers most of the Russian regions. The area of persistently high rabies incidence primarily encompasses the forest-steppe, mixed forest, and broadleaf forest biomes of the East European Plain. In the Russian Federation, the maximum number of rabies cases is reported among foxes. Rabies epizootics in natural ecosystems exhibit spillover effects, leading to active transmission among multiple domestic animal species. The primary risk group involves dogs, cats and cattle. Oral rabies vaccination of wild carnivores established a significant downward trend in animal rabies incidence while reducing amplitude fluctuations in long-term epizootic cycle.

Conclusion. The observed decline in rabies incidence across the Russian Federation has not been accompanied by a proportional reduction in the disease's geographic distribution. These findings underscore the need to modify current control measures and implement a comprehensive program for complete elimination of circulating *Lyssavirus rabies* strains from infected ecosystems.

Keywords: epizootic process, rabies, *Lyssavirus rabies*, disease distribution area, virus reservoir, database, geoinformation system, spatial analysis

Acknowledgements: The study was conducted as part of the state assignment on topic FGUG-2025-0005.

For citation: Gulyukin A. M., Shabeikin A. A. Rabies in the Russian Federation: A 35-year review of trends, patterns, and influencing factors. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 232–240. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-232-240>

Conflict of interests: The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: Alexander A. Shabeykin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Head of the Laboratory of General Epizootology, Federal Scientific Centre VIEV, 24/1 Ryazansky prospekt, Moscow 109428, Russia, viev@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство является вирусным природно-очаговым заболеванием, которое способно вызвать развитие летального менингоэнцефалита у представителей всех видов млекопитающих [1]. Клиническую форму бешенства у животных и человека может индуцировать инфицирование любым из известных 18 видов вирусов, которые входят в род *Lyssavirus* [2]. Циркуляция штаммов лиссавирусов в естественных экосистемах происходит в конспецифичных популяциях млекопитающих животных, которые выступают биологическими резервуарами вируса. Подавляющее число видов лиссавирусов циркулируют в популяциях рукокрылых животных (*Chiroptera*) [3]. Исключение составляет вид *Lyssavirus rabies*, который обладает биологическими механизмами, обеспечивающими смену резервуарного хозяина [4, 5, 6]. Переход *Lyssavirus rabies* к циркуляции и резервации в популяциях наземных животных отряда хищных (*Carnivora*) обеспечил его распространение на большинстве континентов с интродукцией в экосистемы различных биоценозов [7].

На *Lyssavirus rabies* приходится подавляющее число от всех регистрируемых случаев бешенства [8, 9]. С середины XX века по настоящее время основным биологическим резервуаром и распространителем *Lyssavirus rabies* на территории Российской Федерации является рыжая лисица (*Vulpes vulpes*) [10, 11]. В условиях арктических экосистем резервация *Lyssavirus rabies* происходит в популяции песцов (*Alopex lagopus*) [12]. В лесных биомах, возможно, формируются условия для параллельной резервации вируса *Lyssavirus rabies* в популяциях лисиц и енотовидных собак (*Nyctereutes procyonoides*) [13]. Однако значение енотовидных собак как биологического резервуара вируса на территории Российской Федерации подвергается сомнению [14].

Эпизоотии природного (лисьего) бешенства, в отличие от городского (собачьего), редко провоцируют случаи заражения человека, но при этом являются причи-

ной массового заболевания и гибели различных видов домашних и диких животных [15]. Инфицирование животных, не относящихся к резервуарным видам, является побочным эффектом «перелива» эпизоотической волны (spillover effect) и представляет собой тупиковое направление развития эпизоотического процесса [16].

В популяциях рукокрылых животных на территории Российской Федерации была доказана циркуляция трех видов лиссавирусов [17, 18, 19]. Однако, исходя из расположения ареалов летучих мышей различных видов, этот список с высокой вероятностью не окончательный. В популяции летучих мышей вида поздний кожан (*Eptesicus serotinus*) была доказана циркуляция штаммов вируса *Lyssavirus hamburg* (*European bat 1 lyssavirus*), который широко распространен на территории всего европейского субконтинента. В популяции летучих мышей вида большой трубконос (*Murina leucogaster*) была выявлена циркуляция штаммов вируса вида *Lyssavirus irkut*. В Российской Федерации ареалы данного вида летучих мышей и резервируемого ими лиссавируса распространяются на теплообеспеченные районы Сибири и Дальнего Востока. В предгорьях Кавказа в популяции летучих мышей вида обыкновенный длиннокрыл (*Miniopterus schreibersii*) была выявлена циркуляция штаммов вируса вида *Lyssavirus caucasicus* (*West Caucasian bat lyssavirus*).

Благодаря обособленному образу жизни насекомых-летучих мышей передача лиссавирусов от них животным других видов и человеку происходит на спорадическом уровне и не является глобальной проблемой в эпизоотологическом и эпидемиологическом аспектах.

Учитывая, что сохранение и амплификация штаммов лиссавирусов в занимаемых биоценозах обеспечивается их циркуляцией в популяциях животных резервуарных видов, особенности эпизоотического процесса бешенства детерминированы ландшафтно-климатическими условиями неблагоприятных природных экосистем [20]. Анализ

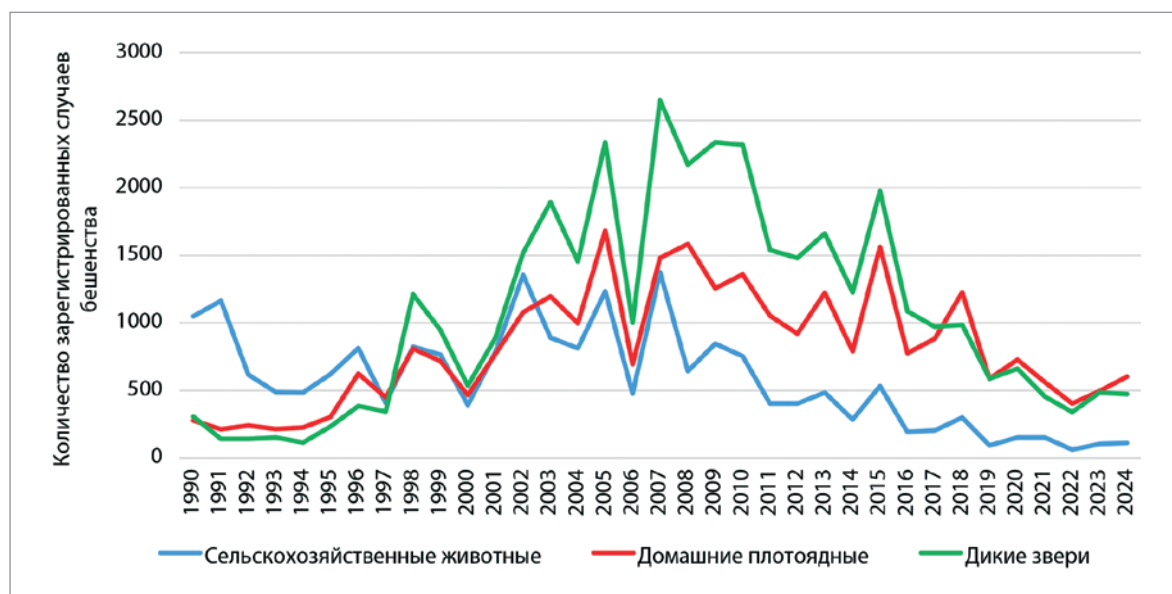


Рис. 1. Кривые ежегодной заболеваемости бешенством в основных видовых группах животных

Fig. 1. Annual rabies incidence curves in the major species groups

пространственно-временной динамики заболеваемости животных бешенством в привязке к природно-сельскохозяйственным зонам и провинциям позволяет исследовать территорию риска с определением факторов, влияющих на стабильность эпизоотического процесса в различных экосистемах [21].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На платформе реляционной системы управления базами данных Microsoft Access (www.microsoft.com) были агрегированы данные отчетов Департамента ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации о вспышках бешенства и проведении антирабической вакцинации среди диких животных. В сформированной базе данных вся информация была структурирована по временной шкале, административно-территориальной принадлежности и виду заболевших животных. Исходя из принадлежности к административным районам, все эпизоотологические данные были привязаны к данным природно-сельскохозяйственного районирования России [22]. Графическая визуализация и статистическая обработка данных проводились с использованием пакета анализа, входящего в состав Microsoft Excel (www.microsoft.com).

Для проведения пространственного анализа все записи базы данных о вспышках бешенства были географически индексированы и привязаны к ID-кодам атрибутивных таблиц слоев на векторной карте административных районов Российской Федерации. Это позволило в тематическом ГИС-проекте построить слои векторной карты с эпизоотологической информацией. Построение ГИС-проекта проводилось на платформе QGIS Desktop (www.qgis.org).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходя из анализа данных эпизоотологического мониторинга за 35-летний период, можно сделать заключение, что показатели проявления эпизоотического процесса бешенства на территории Российской Федерации непрерывно менялись. Изменения затрагивали

все основные показатели, включая годовую инцидентность и долевое соотношение видов животных, вовлекаемых в эпизоотию.

Как видно на графике, приведенном на рисунке 1, наибольшие колебания в прохождении кривой заболеваемости регистрировались по диким животным. В период до 1997 г. число зарегистрированных случаев бешенства среди диких животных значительно уступало количеству случаев заболеваемости среди сельскохозяйственных и домашних животных, что может быть объяснено недостаточностью активных и пассивных мониторинговых исследований в дикой природе. В последующее десятилетие изменились методы диагностики и увеличились объемы исследований среди диких животных. В этот период оральная вакцинация диких плотоядных животных не проводилась и эпизоотический процесс протекал с формированием выраженных многолетних циклов, сопровождавшихся резкими колебаниями кривой заболеваемости с периодичностью 2–4 года. Данное явление связано с автокорреляцией эпизоотического процесса, когда территориальная распространенность летальной инфекции влияет на плотность популяции животных, резервирующих возбудителя.

На середину рассматриваемого 35-летнего периода пришлось начало применения антирабических оральных вакцин для диких плотоядных. По мере усиления кампании по проведению антирабической вакцинации в дикой природе сформировался тренд на снижение инцидентности и выравнивание амплитуды эпизоотических циклов [9].

При сравнении кривых заболеваемости на рисунке 1 видно, что заболеваемость бешенством домашних плотоядных и сельскохозяйственных животных находится в прямой зависимости от числа случаев болезни у диких животных. Это отчетливо прослеживается по прохождению эпизоотических циклов, но присутствуют отличия в долговременных трендах. Среди сельскохозяйственных животных тренд на снижение после 2007 г. был более выражен, чем у домашних плотоядных животных. Технологическое развитие

животноводческой отрасли в последние десятилетия сопровождалось уменьшением общего числа животных, в том числе тех, которые находятся на выпасе. Общее поголовье крупного рогатого скота, по данным Росстата, составляло: в 1990 г. – 57 043,0 тыс. гол.; в 2007 г. – 21 501,6 тыс. гол.; в 2023 г. – 17 068,2 тыс. гол. (данные на конец года). В противоположность сельскохозяйственным животным численность домашних кошек и собак непрерывно увеличивалась, особенно в сельских районах и малых городах, имеющих более тесный контакт с дикой природой [23].

Относительно стабильным периодом по факторам, влияющим на эпизоотический процесс, могут считаться последние 10–15 лет. В это время в Российской Федерации кампании по оральной антирабической иммунизации диких хищников стали проводиться на регулярной основе. Минимальное количество оральной вакцины, применяемой по факту за год, пришлось на 2014–2015 гг. (5,5 и 5,0 млн доз соответственно). В остальные годы этот показатель колебался от 12,0 млн доз (2013) до 26,4 млн доз (2020). В среднем ежегодно применялось около 16,0 млн доз оральной антирабической вакцины. Исходя из этого, для исследования современных особенностей эпизоотического процесса бешенства был выбран период с 2013 по 2024 г.

Установлено, что наиболее часто бешенство выявлялось среди лисиц, собак, кошек, крупного рогатого скота и енотовидных собак (рис. 2).

Помимо многолетних циклов колебаний инцидентности, современный эпизоотический процесс бешенства на территории Российской Федерации характеризуется выраженной сезонностью, что объяснимо биологией лисицы, являющейся основным резервуаром и распространителем вируса.

Наименьший уровень инцидентности бешенства приходится на начало лета и совпадает с периодом выкармливания лисят и минимальной дальностью миграций животных. В конце лета молодые лисята начинают искать место обитания, активно мигрируют, что провоцирует осенний подъем заболеваемости. Самый сильный скачок приходится на март, что является следствием активных перемещений и контактов животных в период зимнего гона (рис. 3).

Анализ данных о локализации неблагополучных по бешенству пунктов за данный период показывает, что современный нозоареал бешенства затрагивает территорию, которая охватывает большую часть регионов Российской Федерации. Без учета четырех новых регионов за последние 12 лет случаи бешенства были выявлены в 78 субъектах страны, в 39 из них вспышки бешенства регистрировались ежегодно. Высокая инцидентность и плотность пространственного расположения вспышек бешенства в новых регионах, исходя из данных наблюдения за два последних года, позволяет отнести данные территории также к зоне со стабильно высоким уровнем эпизоотического неблагополучия.

К наиболее неблагополучным за 12-летний период можно отнести 30 субъектов страны, на территории которых было зарегистрировано свыше 80% вспышек бешенства (табл. 1).

Наибольшую инцидентность за 12 лет продемонстрировали регионы, входящие в состав Центрального и Приволжского федеральных округов. В то же время при сравнении 6-летних временных отрезков в этих

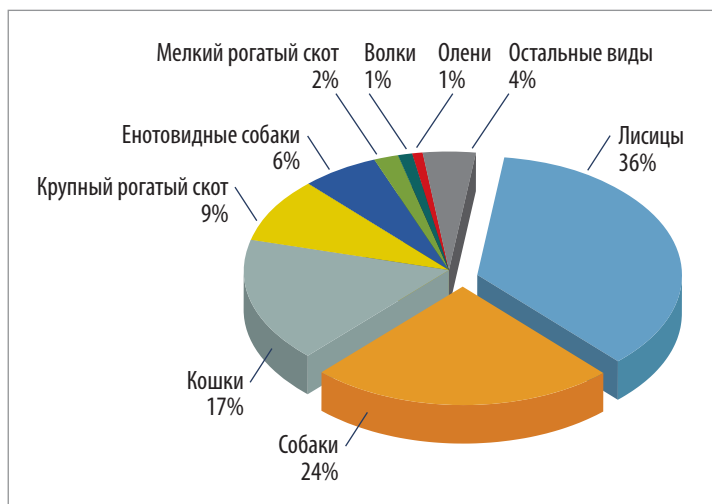


Рис. 2. Долевое распределение случаев заболеваемости бешенством по видам животных за период с 2013 по 2024 г.

Fig. 2. Percentage of rabies cases by animal species in 2013–2024

регионах выявлено наиболее значительное снижение инцидентности.

Как видно из таблицы 1, процесс снижения эпизоотической напряженности происходил несинхронно, по некоторым регионам можно отметить лишь незначительную динамику или даже прирост заболеваемости.

Современный нозоареал бешенства привязан преимущественно к теплообеспеченным регионам

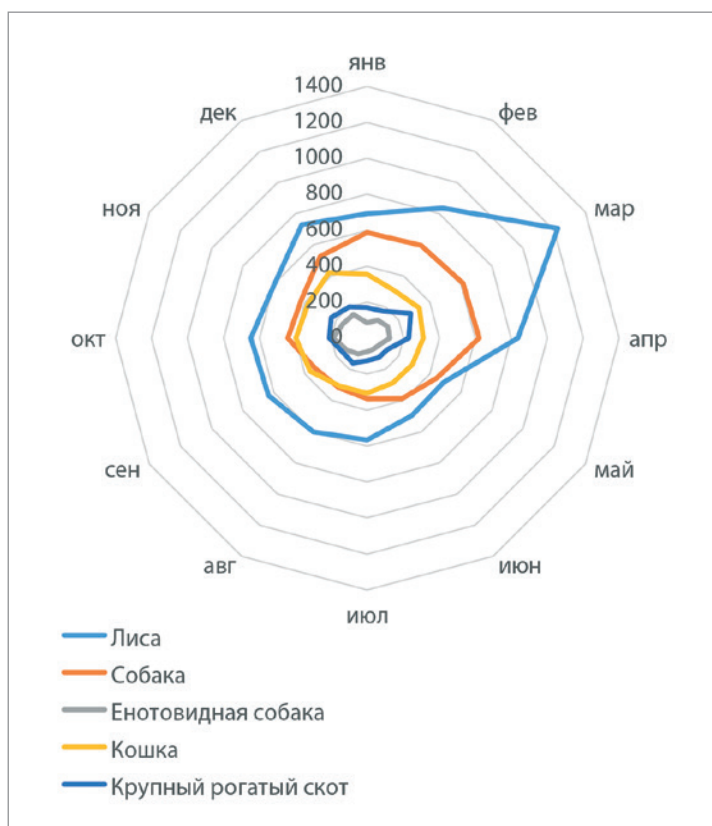


Рис. 3. Сезонность заболеваемости основных видов животных, вовлекаемых в эпизоотический процесс бешенства (по данным мониторинга за 2013–2024 гг.)

Fig. 3. Dynamics of seasonal rabies incidence in animals involved in the rabies process (according to monitoring data for 2013–2024)

Российской Федерации. Незначительное число случаев болезни приходится на биомы северных территорий.

Характерной особенностью географического распределения вспышек бешенства является низкая пространственная плотность в подзонах северной и средней тайги. Отсутствие мониторинговых данных в бореальных лесах тайги частично объяснимо малонаселенностью территорий, однако относительно низкая заболеваемость бешенством среди домашних плотоядных свидетельствует о наличии естественных причин низкой инцидентности. Самозатухание эпизоотических

волн бешенства в бореальных лесах объяснимо низкой плотностью популяций хищников из-за относительно слабой кормовой базы, наличием естественных ландшафтных препятствий и высокого снежного покрова в зимнее время для миграционных передвижений животных.

Сравнение территориального расположения вспышек бешенства в 2013–2018 и 2019–2024 гг. показало, что количество эпизоотических вспышек на единицу пространства при одновременном сохранении границ нозоареала снизилось (рис. 4).

Таблица 1

Субъекты Российской Федерации с наибольшим количеством зарегистрированных случаев бешенства за период с 2013 по 2024 г.

Table 1

The subjects of the Russian Federation with the highest rabies incidence in 2013–2024

Федеральный округ	Субъект РФ	Количество зарегистрированных случаев бешенства			Соотношение между двумя периодами, %
		всего	период с 2013 по 2018 г.	период с 2019 по 2024 г.	
Центральный	Московская обл.	1501	1221	280	23
Приволжский	Саратовская обл.	1229	842	387	46
Центральный	Белгородская обл.	1220	996	224	22
Центральный	Липецкая обл.	931	852	79	9
Приволжский	Республика Татарстан	811	719	92	13
Уральский	Челябинская обл.	797	437	360	82
Приволжский	Пензенская обл.	791	470	321	68
Центральный	Воронежская обл.	734	522	212	41
Центральный	Тамбовская обл.	733	493	240	49
Центральный	Владимирская обл.	684	443	241	54
Южный	Волгоградская обл.	680	478	202	42
Центральный	Смоленская обл.	665	371	294	79
Центральный	Тверская обл.	656	501	155	31
Приволжский	Республика Удмуртия	646	524	122	23
Приволжский	Оренбургская обл.	565	453	112	25
Приволжский	Нижегородская обл.	563	309	254	82
Приволжский	Самарская обл.	530	255	275	108
Центральный	Брянская обл.	509	434	75	17
Центральный	Ярославская обл.	507	411	96	23
Уральский	Свердловская обл.	466	321	145	45
Уральский	Тюменская обл.	425	214	211	99
Центральный	Тульская обл.	414	365	49	13
Центральный	Рязанская обл.	382	245	137	56
Приволжский	Кировская обл.	370	315	55	17
Сибирский	Красноярский край	309	110	199	181
Сибирский	Новосибирская обл.	298	184	114	62
Центральный	Курская обл.	295	257	38	15
Сибирский	Республика Хакасия	287	156	131	84
Южный	Астраханская обл.	248	180	68	38
Центральный	Калужская обл.	238	150	88	59

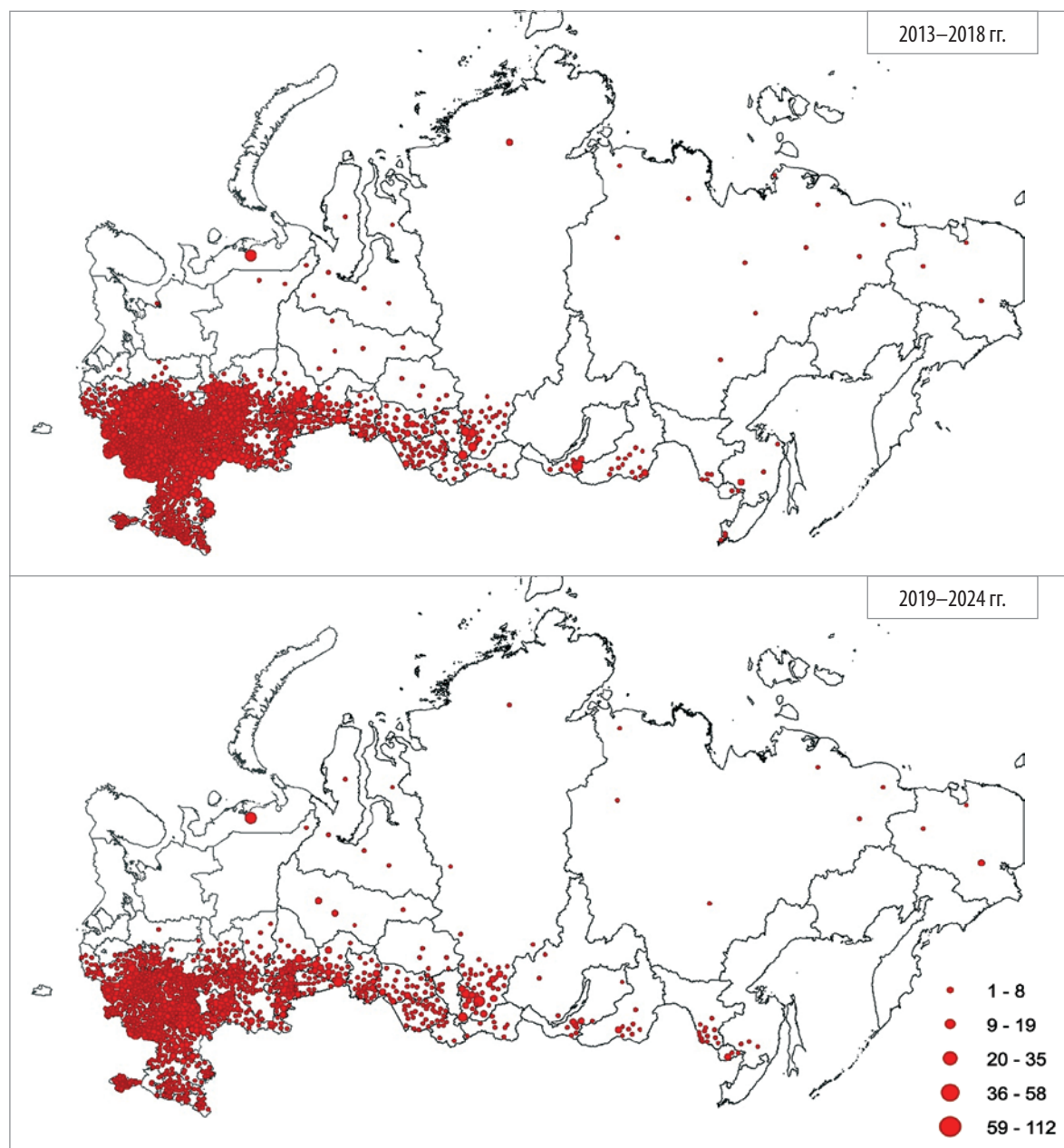


Рис. 4. Локализация и количество вспышек бешенства, зарегистрированных в административных районах Российской Федерации в 2013–2018 и 2019–2024 гг.

Fig. 4. Location and number of rabies outbreaks reported in the administrative regions of the Russian Federation in 2013–2018 and 2019–2024

Учитывая, что наблюдаемая неоднородность территориального распределения вспышек бешенства объяснима экологическими условиями, которые влияют на численность и миграционную активность диких хищников, современная зона эпизоотологического риска привязана к определенным природно-сельскохозяйственным зонам и провинциям.

Из 42 природно-сельскохозяйственных провинций, в которых выявлялось бешенство в 2013–2024 гг., свыше 50% случаев заболеваний приходилось на две из них – Среднерусскую лесостепную и Среднерусскую южно-таежно-лесную (рис. 5).

Привязка эпизоотического неблагополучия по бешенству к природным экологическим системам предопределяет административно-территориальное распределение вспышек болезни и сопровождается

географическими различиями в видовом составе болеющих животных (табл. 2).

Вовлечение животных различных видов в эпизоотический процесс бешенства происходит территориально дифференцированно. В более холодных регионах отмечается превалирование случаев болезни среди диких животных. В теплообеспеченных регионах основную группу эпизоотологического риска составляют домашние плотоядные животные. Данная закономерность объяснима большим взаимопроникновением природной и антропогенной сред в южных регионах.

Наиболее низкая регистрация случаев бешенства среди лисиц в 2013–2024 гг. отмечалась в Кавказской горной природной зоне. Здесь из 192 случаев бешенства только 7 было зарегистрировано среди лисиц, что составляет 4%. Также в данной природной

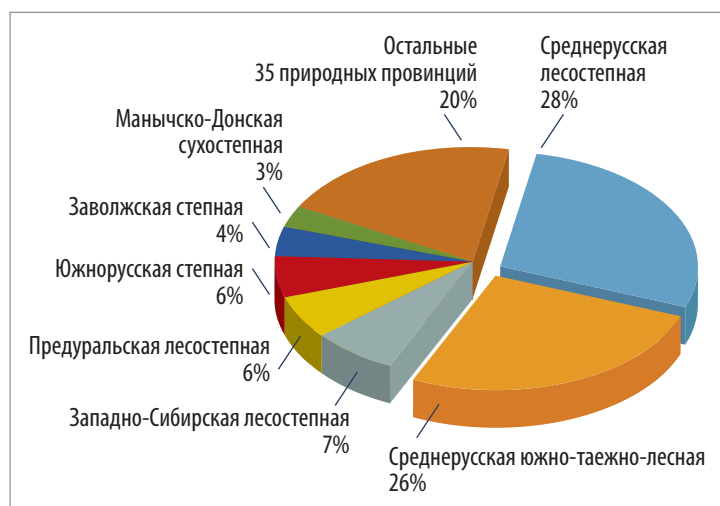


Рис. 5. Распределение вспышек бешенства, зарегистрированных в 2013–2024 гг., по природно-сельскохозяйственным провинциям Российской Федерации

Fig. 5. Distribution of rabies outbreaks reported in 2013–2024 by agroecological provinces of the Russian Federation

зоне отсутствует сезонный подъем заболеваемости животных бешенством в марте, который является типичным для лисьего бешенства в биотопах равнинных территорий.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Современный эпизоотический процесс бешенства на территории Российской Федерации обеспечивает резервацией вируса в популяциях лисиц. В период с 2013 по 2024 г. доля случаев бешенства, зарегистрированных среди лисиц, составила 36%. Наиболее обширная и стабильная зона эпизоотического неблагополучия приходится на две природно-сельскохозяйственные провинции: Среднерусскую лесостепную и Среднерусскую южно-таежно-лесную. Условия Восточно-Европейской равнины в зоне лесостепей и примыкающей к ней южно-таежно-лесной зоне (смешанных и широколиственных лесов) обеспечивают хорошую кормовую базу для хищников семейства псовых и не препятствуют

свободной циркуляции эпизоотических волн бешенства по обширной территории. В совокупности эти факторы поддерживают непрерывность эпизоотического процесса и стабильно высокую инцидентность.

Среди других видов животных наиболее часто бешенство регистрируется среди собак, кошек и крупного рогатого скота, на долю которых суммарно приходится около половины от всех случаев болезни. Инфицирование представителей данных видов можно расценивать как побочный эффект «перелива» природных эпизоотий. Учитывая, что на бешенство собак приходится 24% от общего числа случаев болезни, традиционно возникает вопрос о присутствии на территории Российской Федерации эпизоотий бешенства городского экотипа. Однако при наличии развитой ветеринарной службы и финансируемой государством программы по антирабической вакцинации животных вероятность формирования самостоятельной стабильной циркуляции вируса в популяциях собак является крайне низкой. Домашние плотоядные животные, вследствие особенностей поведения, наиболее часто получают укусы при вторжении лисиц на территорию населенных пунктов и являются яркими маркерами природных эпизоотий, в том числе в районах с недостаточно активными мониторинговыми исследованиями. Однако на некоторых территориях, прежде всего на Северном Кавказе, эпизоотический процесс бешенства протекает со специфическими параметрами, резко контрастирующими с остальной территорией страны. В Кавказской горной природной зоне регистрация бешенства среди лисиц составляет 4%, отсутствует сезонный подъем заболеваемости в марте. Это позволяет предполагать возможность существования локальных зон с сохраняющимся бешенством собачьего типа [24]. Возможность такого сценария подтверждается исследованиями, показывающими генетическую обособленность штаммов вируса бешенства, циркулирующих в Кавказском регионе, а также объясняется географической близостью региона к территории нозоареала бешенства собачьего типа в Малой Азии [25, 26].

Благодаря проведению кампаний по оральной вакцинации диких хищников в Российской Федерации, в последние 15 лет сформировался тренд на снижение

Таблица 2

Территориальные различия в вовлечении в эпизоотический процесс бешенства животных различных видовых групп (по данным мониторинга за 2023–2024 гг.)

Table 2

Rabies infected animals of various groups by territories (according to monitoring data for 2013–2024)

Федеральный округ	Дикие животные		Домашние животные		Сельскохозяйственные животные	
	Всего голов	Вовлеченность, %	Всего голов	Вовлеченность, %	Всего голов	Вовлеченность, %
Северо-Западный	218	60	61	17	85	23
Центральный	4909	49	4410	44	711	7
Приволжский	2771	43	2823	44	876	14
Южный	362	24	935	61	243	16
Северо-Кавказский	61	11	290	51	223	39
Уральский	1244	60	559	27	259	13
Сибирский	928	53	359	21	448	26
Дальневосточный	110	48	61	27	57	25

общей заболеваемости животных бешенством [27]. Наиболее сильный спад инцидентности бешенства был зарегистрирован в популяции лисиц. На этот период пришлось несколько отклонений от сложившегося тренда с непродолжительными подъемами инцидентности. Наиболее значимый скачок заболеваемости бешенством животных за анализируемый период был зарегистрирован в 2015 г. и произошел на фоне сильного снижения объемов оральной вакцинации диких хищников в 2014–2015 гг. Уменьшение инцидентности среди домашних собак и кошек в последние годы было менее выражено, что объяснимо активным ростом численности их популяций.

Сравнительный анализ пространственного расположения вспышек бешенства за два последних 6-летних периода показывает, что регистрируемый спад инцидентности в последние годы не сопровождался элиминацией циркулирующих штаммов вируса с благополучных территорий. Это значительно снижает эпизоотологические и эпидемиологические риски, но в случае уменьшения объемов оральной вакцинации диких хищников можно прогнозировать быстрое ухудшение эпизоотической ситуации. Существующий опыт полного оздоровления от бешенства территории с использованием вакцинных приманок затрагивает только регионы, расположенные изолированно от основного нозоареала (Калининградская область) или находящиеся на его периферии (Ленинградская область, Республика Карелия) [28, 29].

Сложившаяся эпизоотическая ситуация в стране требует разработки новой стратегии противоэпизоотических мероприятий, направленных на уменьшение фактической площади нозоареала. Научное обоснование программ оздоровления территорий должно включать принципы системной эпизоотологии, рассматривающей распространение возбудителя в привязке к экосистемам и проводимым противоэпизоотическим мероприятиям [21].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Epidemiology of Rabies. Rabies – Bulletin – Europe. WHO Collaborating Centre for Rabies Surveillance & Research. <https://who-rabies-bulletin.org/site-page/epidemiology-rabies>
2. Genus: *Lyssavirus*. In: *Rhabdoviridae*. International Committee on Taxonomy of Viruses. <https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/lyssavirus>
3. Rupprecht C. E., Tummelle A., Kuzmin I. V. A perspective on lyssavirus emergence and perpetuation. *Current Opinion in Virology*. 2011; 1 (6): 662–670. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.10.014>
4. Badrane H., Tordo N. Host switching in *Lyssavirus* history from the *Chiroptera* to the *Carnivora* orders. *Journal of Virology*. 2001; 75 (17): 8096–8104. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.17.8096-8104.2001>
5. Kuzmin I. V., Shi M., Orciari L. A., Yager P. A., Velasco-Villa A., Kuzmina N. A., et al. Molecular inferences suggest multiple host shifts of rabies viruses from bats to mesocarnivores in Arizona during 2001–2009. *PLoS Pathogens*. 2012; 8 (6): e1002786. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002786>
6. Marston D. A., Banyard A. C., McElhinney L. M., Freuling C. M., Finke S., de Lamballerie X., et al. The lyssavirus host-specificity conundrum-rabies virus – the exception not the rule. *Current Opinion in Virology*. 2018; 28: 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.11.007>
7. Макаров В. В., Гулюкин А. М., Гулюкин М. И. Бешенство: естественная история на рубеже столетий. М.: ЗооВетКнига; 2015. 121 с.
8. Метлин А. Е. Современные аспекты классификации лиссавирусов. *Ветеринария сегодня*. 2017; (3): 52–57. <https://elibrary.ru/zigafr>
9. Rupprecht C. E., Hanlon C. A., Slate D. Oral vaccination of wildlife against rabies: opportunities and challenges in prevention and control. *Developments in Biologicals*. 2004; 119: 173–184. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15742629>
10. Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2022. 442 с.

11. Черкасский Б. Л. Эпидемиология и профилактика бешенства. М.: Медицина; 1985. 287 с.
12. Полещук Е. М., Сидоров Г. Н., Грибенча С. В. Итоги изучения антигенного и генетического разнообразия вируса бешенства в популяциях наземных млекопитающих России. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58 (3): 9–16. <https://elibrary.ru/pzxttn>
13. Bourhy H., Kissi B., Audry L., Smreczak M., Sadkowska-Todys M., Kulonen K., et al. Ecology and evolution of rabies virus in Europe. *Journal of General Virology*. 1999; 80 (10): 2545–2557. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-10-2545>
14. Макаров В. В., Сухарев О. И., Гулюкин А. М., Соколов М. Н., Литвинов О. Б. Бешенство енотовидных собак: статистический анализ заболеваемости. *Ветеринария*. 2009; (6): 20–25. <https://elibrary.ru/kwzdoz>
15. Matouch O. The rabies situation in Eastern Europe. *Developments in Biologicals*. 2008; 131: 27–35. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18634463>
16. Гулюкин А. М., Шабейкин А. А., Патрикеев В. В., Паршикова А. В., Цареградский П. Ю., Шабейкина М. В. Особенности эпизоотического процесса бешенства в восточной части Европейского нозоареала. *Ветеринария*. 2022; (12): 15–21. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.12.15-21>
17. Botvinkin A. D., Poleschuk E. M., Kuzmin I. V., Borisova T. I., Gazarin S. V., Yager P., Rupprecht C. E. Novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. *Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9 (12): 1623–1625. <https://doi.org/10.3201/eid0912.030374>
18. Сперанская А. С., Самойлов А. Е., Каптелова В. В., Артюшин И. В., Симонова Е. Г., Шабейкин А. А. и др. Определение последовательности генома европейского лиссавируса летучих мышей 1-го типа, изолированного из летучей мыши вида *Eptesicus serotinus*, пойманной в окрестностях г. Воронеж в конце 2019 г. *Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием: сборник материалов (Москва, 6–8 октября 2020 г.)*. М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора; 2020; 251–252. <https://elibrary.ru/yisewj>
19. Полещук Е. М., Тагакова Д. Н., Сидоров Г. Н., Орлова Т. С., Гордейко Н. С., Кайсаров А. Ж. Случаи летальной лиссавирусной инфекции у людей после контактов с рукокрылыми на Дальнем Востоке России в 2019–2021 гг. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68 (1): 45–58. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-156>
20. Шабейкин А. А., Гулюкин А. М., Паршикова А. В. Анализ закономерностей эпизоотического процесса бешенства на территории европейской части Российской Федерации. *Ветеринария и кормление*. 2015; (1): 29–34. <https://elibrary.ru/tgucgv>
21. Гулюкин А. М. Принципы построения информационно-аналитической системы прогнозирования и моделирования эпизоотологических рисков. *Ветеринария*. 2024; (9): 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2024.27.9.03-08>
22. Гайдамака Е. И., Розов Н. Н., Шашко Д. И., Бондарчук Н. П., Булгаков Д. С., Вадковская Н. Н. и др. Природно-сельскохозяйственное районирование и использование земельного фонда СССР. Под ред. А. Н. Каштанова. М.: Колос; 1983. 336 с.
23. Численность домашних питомцев в России за три года выросла на 11%. *Информационное агентство ТАСС*. 10 апреля 2024 г. <https://tass.ru/novosti-partnerov/20499757>
24. Черкасский Б. Л., Кноп А. Г., Ведерников В. А., Седов В. А., Хайрушев А. Е., Черниченко С. А. Эпидемиология и эпизоотология бешенства на территории бывшего СССР. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1995; 72 (1): 21–26.
25. Marston D. A., Horton D. L., Nunez J., Ellis R. J., Orton R. J., Johnson N., et al. Genetic analysis of a rabies virus host shift event reveals within-host viral dynamics in a new host. *Virus Evolution*. 2017; 3 (2): vex038. <https://doi.org/10.1093/ve/vex038>
26. Metlin A. E., Rybakov S., Gruzdev K., Neuvonen E., Huovilainen A. Genetic heterogeneity of Russian, Estonian and Finnish field rabies viruses. *Archives of Virology*. 2007; 152 (9): 1645–1654. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-1001-6>
27. Парошин А. В., Воскресенский С. Б., Груздев К. Н., Чернышова Е. В. Эпизоотическая ситуация по бешенству на территории Московской области (2011–2023 гг.) и роль оральной вакцинации диких плотоядных. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 214–222. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-214-222>
28. Иванов А. В., Хисматулина Н. А., Петрова Т. П., Гулюкин А. М., Шабейкин А. А., Каримов М. М. и др. Эпизоотическая ситуация и борьба с бешенством в Калининградской области. *Ветеринария*. 2015; (4): 9–13. <https://elibrary.ru/tolysd>
29. Фогель Л. С., Груздев К. Н., Кротов Л. Н., Данко Ю. Ю. Практика создания буферных зон в противоэпизоотических мероприятиях по бешенству на примере приграничной зоны с Финляндией. *Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии*. 2024; (1): 38–41. <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2024.1.38>

REFERENCES

1. Epidemiology of Rabies. Rabies – Bulletin – Europe. WHO Collaborating Centre for Rabies Surveillance & Research. <https://who-rabies-bulletin.org/site-page/epidemiology-rabies>
2. Genus: *Lyssavirus*. In: *Rhabdoviridae*. International Committee on Taxonomy of Viruses. <https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/lyssavirus>
3. Rupprecht C. E., Turmelle A., Kuzmin I. V. A perspective on lyssavirus emergence and perpetuation. *Current Opinion in Virology*. 2011; 1 (6): 662–670. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.10.014>
4. Badrane H., Tordo N. Host switching in *Lyssavirus* history from the *Chiroptera* to the *Carnivora* orders. *Journal of Virology*. 2001; 75 (17): 8096–8104. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.17.8096-8104.2001>
5. Kuzmin I. V., Shi M., Orciari L. A., Yager P. A., Velasco-Villa A., Kuzmina N. A., et al. Molecular inferences suggest multiple host shifts of rabies viruses from bats to mesocarnivores in Arizona during 2001–2009. *PLoS Pathogens*. 2012; 8 (6): e1002786. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002786>
6. Makarov D. A., Banyard A. C., McElhinney L. M., Freuling C. M., Finke S., de Lamballerie X., et al. The lyssavirus host-specificity conundrum-rabies virus – the exception not the rule. *Current Opinion in Virology*. 2018; 28: 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.11.007>
7. Makarov V. V., Gulyukin A. M., Gulyukin M. I. Rabies: Natural History at Centuries Boundary. Moscow: ZooVetKniga; 2015. 121 p. (in Russ.)
8. Metlin A. Ye. Modern aspects of *Lyssavirus* classification. *Veterinary Science Today*. 2017; (3): 52–57. <https://elibrary.ru/zigafp> (in Russ.)
9. Rupprecht C. E., Hanlon C. A., Slate D. Oral vaccination of wildlife against rabies: opportunities and challenges in prevention and control. *Developments in Biologicals*. 2004; 119: 173–184. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15742629>
10. Gruzdev K. N., Metlin A. Ye. Animal Rabies. 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: Federal Centre for Animal Health; 2022. 442 p. (in Russ.)
11. Cherkasskiy B. L. Epidemiology and Prevention of Rabies. Moscow: Medicine; 1985. 287 p. (in Russ.)
12. Poleshchuk E. M., Sidorov G. N., Gribencha S. V. A summary of the data about antigenic and genetic diversity of rabies virus circulating in the terrestrial mammals in Russia. *Problems of Virology*. 2013; 58 (3): 9–16. <https://elibrary.ru/pzxttn> (in Russ.)
13. Bourhy H., Kissi B., Audry L., Smreczak M., Sadkowska-Todys M., Kulonen K., et al. Ecology and evolution of rabies virus in Europe. *Journal of General Virology*. 1999; 80 (10): 2545–2557. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-10-2545>
14. Makarov V. V., Sukharev O. I., Gulyukin A. M., Sokolov M. N., Litvinov O. B. Statistical analyses morbidity racoon dogs rabies. *Veterinariya*. 2009; (6): 20–25. <https://elibrary.ru/kwzdoz> (in Russ.)
15. Matouch O. The rabies situation in Eastern Europe. *Developments in Biologicals*. 2008; 131: 27–35. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18634463>
16. Gulyukin A. M., Shabeikyn A. A., Patrikeev V. V., Parshikova A. V., Tsaregradskiy P. Yu., Shabeykina M. V. Features of the epizootic process of rabies in the Eastern part of the European nosoareal. *Veterinariya*. 2022; (12): 15–21. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.12.15-21> (in Russ.)
17. Botvinkin A. D., Poleschuk E. M., Kuzmin I. V., Borisova T. I., Gazaryan S. V., Yager P., Rupprecht C. E. Novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. *Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9 (12): 1623–1625. <https://doi.org/10.3201/eid0912.030374>
18. Speranskaya A. S., Samoilov A. E., Kapteleva V. V., Artyushin I. V., Simonova E. G., Shabeykin A. A., et al. Genome sequence of European bat 1 lyssavirus isolated from *Eptesicus serotinus*, which was caught near Voronezh city in late 2019. *Molecular Diagnostics and Biosafety – 2020: Russian national scientific and practical conference with international participation (Moscow, October 6–8, 2020): conference proceedings*. Moscow: Central Research Institute for Epidemiology; 2020; 251–252. <https://elibrary.ru/yisewj> (in Russ.)
19. Poleshchuk E. M., Tagakova D. N., Sidorov G. N., Orlova T. S., Gordeiko N. S., Kaisarov A. Zh. Lethal cases of lyssavirus encephalitis in humans after contact with bats in the Russian Far East in 2019–2021. *Problems of Virology*. 2023; 68 (1): 45–58. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-156>
20. Shabeikyn A. A., Gulyukin A. M., Parshikova A. V. Analysis of patterns in rabies epizootic process in the European part of the Russian Federation. *Veterinariya i kormlenie*. 2015; (1): 29–34. <https://elibrary.ru/tgucgv> (in Russ.)
21. Gulyukin A. M. The principles of building an informational and analytical systems for forecasting and modeling epizootological risks. *Veterinariya*. 2024; (9): 3–8. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2024.27.9.03-08> (in Russ.)
22. Gaidamaka E. I., Rozov N. N., Sashko D. I., Bondarchuk N. P., Bulgakov D. S., Vadkovskaya N. N. et al. Natural and Agricultural Zoning of the Land Fund of the USSR. Ed. by A. N. Kashtanov. Moscow: Kolos; 1983. 336 p. (in Russ.)
23. The number of pets in the Russian Federation has increased by 11% in three years. TASS Russian News Agency. April 10, 2024. <https://tass.ru/novosti-partnerov/20499757> (in Russ.)
24. Cherkasskiy B. L., Knop A. G., Vedernikov V. A., Sedov V. A., Khaïrusev A. E., Chernichenko S. A. The epidemiology and epizootiology of rabies on the territory of the former USSR. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1995; 72 (1): 21–26. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7778368> (in Russ.)
25. Marston D. A., Horton D. L., Nunez J., Ellis R. J., Orton R. J., Johnson N., et al. Genetic analysis of a rabies virus host shift event reveals within-host viral dynamics in a new host. *Virus Evolution*. 2017; 3 (2): vex038. <https://doi.org/10.1093/ve/vex038>
26. Metlin A. E., Rybakov S., Gruzdev K., Neuvonen E., Huovilainen A. Genetic heterogeneity of Russian, Estonian and Finnish field rabies viruses. *Archives of Virology*. 2007; 152 (9): 1645–1654. <https://doi.org/10.1007/s00705-007-1001-6>
27. Paroshin A. V., Voskresensky S. B., Gruzdev K. N., Chernyshova E. V. Rabies situation in the Moscow oblast in 2011–2023 and the role of oral vaccination of wild carnivores against rabies. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 214–222. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-214-222>
28. Ivanov A. V., Khismatullina N. A., Petrova T. P., Gulyukin A. M., Shabeikyn A. A., Karimov M. M., et al. Rabies epizootic situation in the Kaliningrad Region. *Veterinariya*. 2015; (4): 9–13. <https://elibrary.ru/tolysd> (in Russ.)
29. Fogel L. S., Gruzdev K. N., Krotov L. N., Danko Yu. Yu. The practice of creating buffer zones in anti-epizootic measures for rabies using the example of the border zone with Finland. *Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2024; (1): 38–41. <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2024.1.38> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 12.05.2025

Поступила после рецензирования / Revised 10.06.2025

Принята к публикации / Accepted 30.07.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гулюкин Алексей Михайлович, д-р вет. наук, член-корреспондент РАН, директор ФГБНУ ФНЦ ВИАВ РАН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>, admin@viev.ru

Шабейкин Александр Александрович, д-р вет. наук, заведующий лабораторией общей эпизоотологии ФГБНУ ФНЦ ВИАВ РАН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3413-8131>, viev@mail.ru

Alexey M. Gulyukin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>, admin@viev.ru

Alexander A. Shabeykin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Head of the Laboratory of General Epizootology, Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3413-8131>, viev@mail.ru

Вклад авторов: Гулюкин А. М. – концепция и дизайн исследования, рецензирование текста и полученных результатов, финальное редактирование рукописи; Шабейкин А. А. – концепция и дизайн исследования, проведение пространственного и статистического анализа данных, подготовка рукописи, рецензирование текста и полученных результатов, оформление текста.

Contribution of the authors: Gulyukin A. M. – conceptualization and study design, review and validation of the text and results, final editing of the manuscript; Shabeykin A. A. – conceptualization and study design, spatial and statistical data analysis, preparation of the manuscript draft, review and validation of the text and results, text formatting and preparation.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-241-248>
УДК 619:578.824.11:575.8(470.45)

Филогенетический анализ изолятов вируса бешенства, выделенных от животных на территории Волгоградской области

С. А. Чупин¹, Е. В. Чернышова¹, Р. С. Чернышев¹, К. Н. Груздев¹, А. Н. Спиридонов¹, А. В. Варкентин¹, Н. А. Назаров¹, И. Д. Зарва², А. Д. Ботвинкин²

¹ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России), ул. Красного Восстания, 1, г. Иркутск, 664003, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Нижнее Поволжье, в том числе Волгоградская область, вплоть до настоящего времени относится к числу наиболее неблагополучных по бешенству регионов России. Сведения о генетическом разнообразии возбудителя бешенства в современный период для Волгоградской области представлены недостаточно, поэтому филогенетический анализ изолятов вируса бешенства из этого региона представляется актуальной научной задачей.

Цель исследования. Проведение филогенетического анализа современных изолятов вируса бешенства, выделенных от животных на территории Волгоградской области, на основании полноразмерной последовательности гена нуклеопротеина.

Материалы и методы. Использовали головной мозг животных с диагнозом «бешенство». Анализ полученных нуклеотидных последовательностей гена нуклеопротеина вируса бешенства проводили с помощью байесовского метода строгих молекулярных часов. Ландшафтно-географическая карта Natural Earth использована для описания пространственного распределения изолятов возбудителя бешенства.

Результаты. Определена полноразмерная последовательность гена нуклеопротеина 13 изолятов вируса бешенства из Волгоградской области. Филогенетический анализ позволил установить, что представители популяции возбудителя бешенства из этого региона относятся к различным генетическим вариантам группы С, сформировавшимся в разное время. Генетическое родство с изолятами из Казахстана, Молдовы, центральных и южных регионов России, с Украины свидетельствует об интенсивном перемещении вируса бешенства на юге европейской части России. В то же время разные варианты вируса бешенства обнаружены на левом и правом берегах Волги.

Заключение. Все изученные изоляты возбудителя бешенства из Волгоградской области принадлежали к генетической группе С и отличались высоким генетическим разнообразием вариантов.

Ключевые слова: вирус бешенства, филогенетический анализ, генетическая группа С, Волгоградская область

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания «Выявление возбудителей трансграничных заболеваний животных, изучение их биологических свойств, особенностей заноса и распространения болезней, вызываемых данными возбудителями».

Для цитирования: Чупин С. А., Чернышова Е. В., Чернышев Р. С., Груздев К. Н., Спиридонов А. Н., Варкентин А. В., Назаров Н. А., Зарва И. Д., Ботвинкин А. Д. Филогенетический анализ изолятов вируса бешенства, выделенных от животных на территории Волгоградской области. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 241–248. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-241-248>

Конфликт интересов: Груздев К. Н. является главным редактором журнала «Ветеринария сегодня», но не имеет никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Рукопись прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для корреспонденции: Чупин Сергей Александрович, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ», ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, chupin@arriah.ru

Phylogenetic analysis of rabies virus isolates recovered from animals in Volgograd Oblast

Sergei A. Chupin¹, Elena V. Chernyshova¹, Roman S. Chernyshev¹, Konstantin N. Gruzdev¹, Artem N. Spiridonov¹, Andrey V. Varkentin¹, Nikolay A. Nazarov¹, Ivan D. Zarva², Aleksandr D. Botvinkin²

¹ Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

² Irkutsk State Medical University, 1 Krasnogo Vosstaniya str., Irkutsk 664003, Russia

ABSTRACT

Introduction. The Lower Volga region, including the Volgograd Oblast, remains one of Russia's most rabies-affected areas to date. Data on the genetic diversity of rabies viruses (RABVs) currently circulating in the Volgograd Oblast are insufficient, making phylogenetic analysis of RABV isolates from this region a relevant scientific objective.

Objective. The study aims to conduct a phylogenetic analysis of current RABV isolates recovered from animals in the Volgograd Oblast, based on the full-length nucleoprotein gene sequence.

© Чупин С. А., Чернышова Е. В., Чернышев Р. С., Груздев К. Н., Спиридонов А. Н., Варкентин А. В., Назаров Н. А., Зарва И. Д., Ботвинкин А. Д., 2025

Materials and methods. Brain tissue samples from animals diagnosed with rabies were used. The obtained nucleotide sequences of the RABV nucleoprotein gene were analyzed using the Bayesian strict molecular clock method. The spatial distribution of RABV isolates was described using Natural Earth physical map.

Results. Full-length nucleoprotein gene sequencing was performed for 13 RABV isolates collected in the Volgograd Oblast. Phylogenetic analysis revealed that the RABV population in this region comprises distinct genetic variants of genetic group C, formed at different times. Genetic relationship to the isolates from Kazakhstan, Ukraine, Moldova and Central/Southern Russia indicates intensive RABV circulation in Southern European Russia. Notably, distinct virus variants were detected on the left and right banks of the Volga River.

Conclusion. All studied RABV isolates collected in the Volgograd Oblast belonged to genetic group C and exhibited high genetic diversity among variants.

Keywords: rabies virus (RABV), phylogenetic analysis, genetic group C, Volgograd Oblast

Acknowledgements: The study was conducted within the state assignment "Detection of animal transboundary disease pathogens, study of their biological properties, and investigation of the entry and spread patterns of diseases caused by these pathogens".

For citation: Chupin S. A., Chernyshova E. V., Chernyshev R. S., Gruzdev K. N., Spiridonov A. N., Varkentin A. V., Nazarov N. A., Zarva I. D., Botvinkin A. D. Phylogenetic analysis of rabies virus isolates recovered from animals in Volgograd Oblast. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 241–248. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-241-248>

Conflict of interests: Gruzdev K. N. is the editor-in-chief of the "Veterinary Science Today" journal, but was not involved into the decision making process related to this article publication. The manuscript has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interests.

For correspondence: Sergei A. Chupin, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, chupin@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Применение молекулярно-генетических исследований в эпизоотологии существенно расширило возможности надзора за зоонозными инфекциями. Сведения о внутривидовом разнообразии и степени родства генетических линий возбудителей инфекционных болезней, полученные в результате филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей отдельных генов и полных геномов, несут в себе ценную информацию о происхождении патогенов, особенностях их пространственного распространения и значении в патологии человека и животных. Сформировались и активно развиваются новые направления исследований и практической деятельности – молекулярная эпидемиология и геномный эпидемиологический надзор [1, 2].

На территории Российской Федерации выявлено несколько генетических групп вируса бешенства, имеющих различную географическую привязку [3, 4, 5, 6, 7]. Представители генетической группы С («степная») [3] распространены наиболее широко и в настоящее время занимают территории от Восточной Европы до юга Сибири, Казахстана и Северо-Восточного Китая [6, 8, 9, 10, 11]. С середины XX века основным резервуаром вируса бешенства на этой территории является лисица (*Vulpes vulpes*). Предполагалось, что эпизоотии «лисий» бешенства начались в 1939 г. в Восточной Пруссии (Польский коридор) и за 20–30 лет распространились на запад (до Франции и Бельгии) и на восток (в Прибалтику, на Украину, в Белоруссию и западные регионы России) [12, 13]. На картограммах хорошо прослеживается последовательное распространение «лисий» бешенства в европейской части бывшего СССР [14]. В начале XXI века эпизоотии среди лисиц распространились на регионы Сибири (в Красноярский край и Забайкалье), которые оставались благополучными по бешенству на протяжении нескольких десятилетий [7, 15].

В 1942 г. была описана вспышка бешенства среди диких животных в дельте Волги [13]. Считается, что этот

район, наряду с Восточной Пруссией, послужил одним из центров распространения «лисий» бешенства в СССР [13, 16]. Нижнее Поволжье, в том числе Волгоградская область, вплоть до настоящего времени относится к числу наиболее неблагополучных по бешенству регионов России [7, 16]. Практически вся территория Волгоградской области энзоотична [17, 18]. Первичным резервуаром вируса бешенства здесь считается лисица, хотя в последние десятилетия до 38% всех зафиксированных случаев заболевания приходилось на собак и кошек, тогда как доля диких животных не превышала 25% [19]. Известно, что в 4 из 6 зарегистрированных после 2000 г. случаев бешенства у людей заражение произошло от собак и кошек [7, 20]. Опубликованы нуклеотидные последовательности гена нуклеопротеина (гена N) всего двух изолятов вируса бешенства от животных из Волгоградской области, которые были отнесены к генетической группе С [3]. Сведения о генетическом разнообразии возбудителя бешенства в современный период для Волгоградской области представлены недостаточно, поэтому филогенетический анализ изолятов вируса из этого региона представляется актуальной научной задачей.

Целью работы являлось проведение филогенетического анализа современных изолятов вируса бешенства, выделенных от животных на территории Волгоградской области, на основании полноразмерной последовательности гена N.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучено 13 изолятов вируса бешенства, выделенных от животных на территории Волгоградской области в 2018–2021 гг. (табл. 1, рис. 1).

Выделение РНК из головного мозга животных и наработку в полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией двух перекрывающихся фрагментов генома, содержащих полноразмерный ген N вируса бешенства, с последующей очисткой и нуклеотидным секвенированием по Сэнгеру осуществляли согласно ранее опубликованному протоколу [5]. Полученные

Таблица 1

Сведения об изолятах вируса бешенства, выделенных от животных на территории Волгоградской области

Table 1

Information on RABV isolates recovered from animals in the Volgograd Oblast

№ п/п	Полное название изолята	Координаты населенных пунктов		Год	Животное-хозяин	Номер в GenBank
		широта	долгота			
1	490_2/2018/Volgograd	50,19760	42,69182	2018	собака	OP311892
2	490_4/2018/Volgograd	49,98861	46,68835	2018	собака	OP311893
3	1563/2018/Volgograd	50,99677	44,35670	2018	собака	OP311840
4	1299/138/2021/Volgograd	51,07931	42,51306	2021	КРС*	OP311869
5	1299/139/2021/Volgograd	50,08529	45,40216	2021	собака	OP311870
6	1299/141/2021/Volgograd	48,38944	42,35912	2021	собака	OP311871
7	1299/142/2021/Volgograd	48,09285	42,59016	2021	КРС	OP311872
8	1299/143/2021/Volgograd	50,24182	41,83726	2021	собака	OP311873
9	1299/144/2021/Volgograd	49,85802	42,33575	2021	собака	OP311874
10	1299/145/2021/Volgograd	49,35021	45,07359	2021	куница**	OP311875
11	1299/146/2021/Volgograd	49,73250	43,48296	2021	КРС	OP311876
12	1299/147/2021/Volgograd	48,24536	42,64595	2021	кошка	OP311877
13	1299/148/2021/Volgograd	49,85802	42,33575	2021	волк***	OP311878

* КРС – крупный рогатый скот (cattle); ** куница – *Martes sp.*; *** волк – *Canis lupus*.

последовательности экспортировали в международную базу данных GenBank (номера доступа в GenBank представлены в таблице 1).

При выполнении филогенетического анализа использовали байесовский подход с применением пакета программ Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees (BEAST X) [21]. Предварительно с помощью компьютерной программы Mega X оценивали модель, подходящую для построения филогенетического дерева, с определением байесовского коэффициента (BIC) и скорректированного коэффициента Акаике (AICc). По результатам теста была выбрана модель Хасегава – Кишино – Яно с гамма-распределением 4-й категории (HKY + G; BIC = 21 360,059; AICc = 17 664,682) [22]. Филогенетическое дерево, отражающее апостериорную (эмпирическую, лат. *a posteriori*) вероятность времени образования внутренних (предковых) и терминальных узлов с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ), конструировали методом строгих молекулярных часов, устанавливая гетерохронную калибровку до года выделения образца, модель случайного начального дерева с постоянным размером популяции, длину марковской цепи Монте-Карло (MCMC) 1×10^8 с частотой дискретизации 1×10^5 . Апостериорную прогностическую проверку проводили для всех таксонов, принадлежащих генетической группе С вируса бешенства.

Достоверность MCMC оценивали в программе Tracer при анализе выходных данных BEAST X [23].

Дерево аннотировали с помощью утилиты Tree-Annotator и установленных параметров устранения выбросов (burn-in = 10%, 10 000 000 состояний), максимальной достоверности клада (MCC) и сохранения заданной длины.

Визуализацию филогенетического дерева выполняли в программе FigTree v1.4.5 [24].

Для картографирования использована программа QGIS 3.2.1 и электронная ландшафтно-географическая

карта Natural Earth. Точки на карту наносили по географическим координатам населенных пунктов, в которых выявлены случаи бешенства.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Была определена полноразмерная нуклеотидная последовательность гена N (1353 н.) 13 полевых изолятов вируса бешенства, выделенных от животных на территории десяти районов Волгоградской области в период с 2018 по 2021 г. Места выявления изолятов представлены на карте (рис. 1).

Согласно предварительному анализу, все изученные изоляты относятся к генетической группе С вируса бешенства. Поэтому для построения филогенетического дерева из базы данных GenBank были взяты полноразмерные последовательности всех имеющихся изолятов этой группы, выявленных на территории РФ, с известным годом обнаружения. Кроме того, анализ изучаемых последовательностей на наличие близкородственных последовательностей с помощью поисковой системы BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) позволил определить близкородственные изоляты, выявленные в Казахстане, Молдове, Польше и на Украине. Они также были включены в филогенетический анализ. Для наглядного представления группы С среди других генетических вариантов вируса были включены по несколько изолятов из других генетических групп, циркулирующих на территории Европы и европейской части России (кроме представителей клада Arctic-related ввиду очень отдаленного генетического родства). Таким образом, в филогенетическое дерево было включено 178 полноразмерных последовательностей гена N вируса бешенства, из них 121 последовательность принадлежала представителям генетической группы С. Для лучшей читаемости рисунка группы изолятов, не имеющих близкого генетического родства с изучаемыми изолятами, были

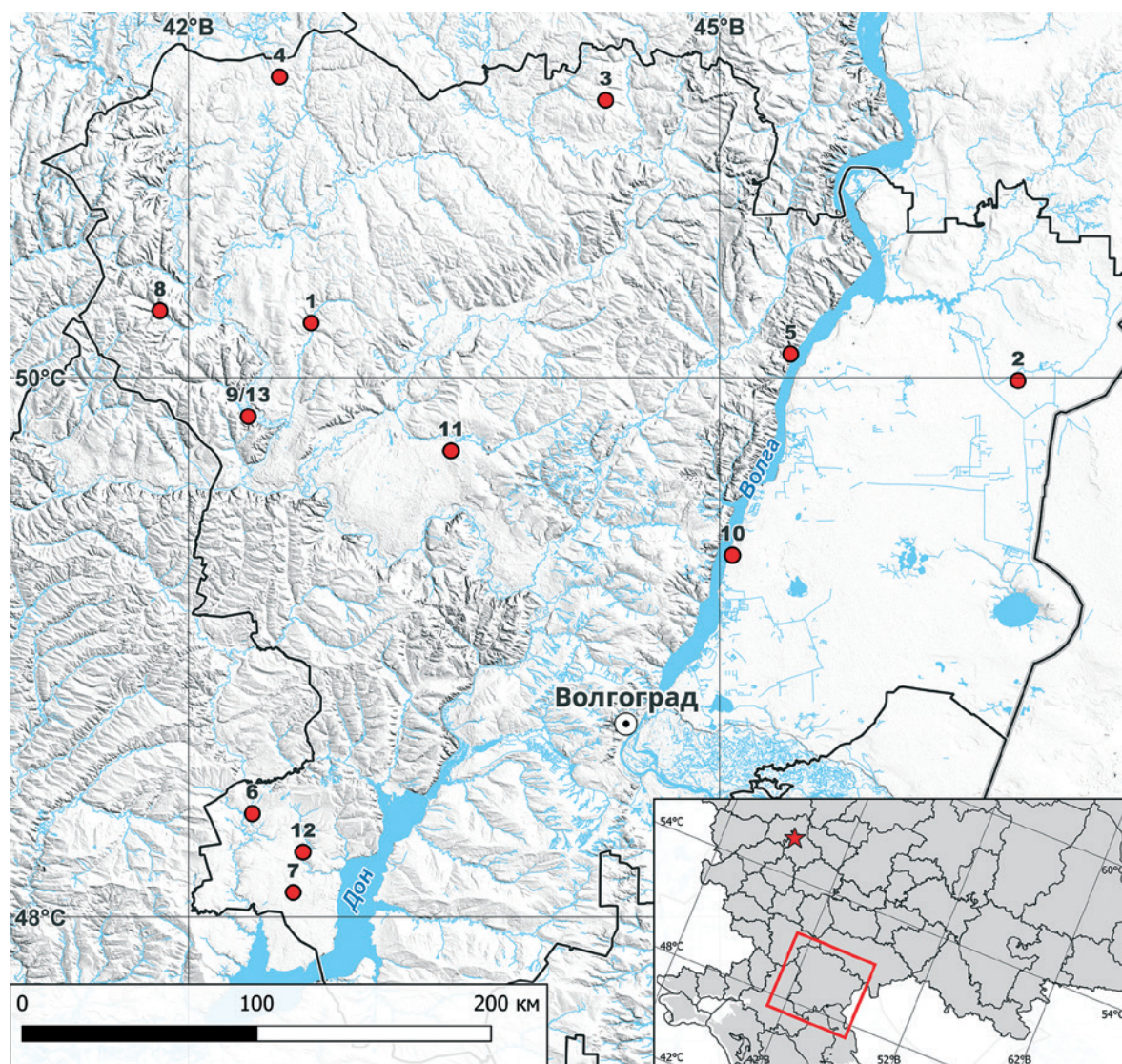


Рис. 1. Распределение выделенных от животных изолятов вируса бешенства по территории Волгоградской области (цифрами обозначены изоляты, указанные в таблице 1)

Fig. 1. Distribution of RABV isolates collected from animals in the Volgograd Oblast (the isolates listed in Table 1 are numbered)

«свернуты» (англ. collapsed). Полученное филогенетическое дерево представлено на рисунке 2.

Согласно топологии дерева все изучаемые изоляты относятся к генетической группе С, современный ареал которой в пределах Российской Федерации простирается от западных границ и областей средней полосы европейской части страны до степных и лесостепных территорий Сибири, повсеместно уходя за границы России на юге [3, 6, 5, 11]. Вирус бешенства генетической линии С в Волгоградской области выделяли как от диких плотоядных, так и от домашних и сельскохозяйственных животных.

Все изученные изоляты уникальны по сравнению с выявленными ранее, в том числе и из Волгоградской области, и образуют несколько групп с высокой оценкой апостериорной вероятности (ОАВ) друг с другом и с ранее изученными изолятами из российских и зарубежных регионов.

Так, изолят 490_4/2018/Volgograd проявляет значительное сходство (99,85%) с изолятом Rab-8-4, выявленным в Туркестанской области Казахстана. Предпо-

ложительное время существования последнего общего предка (ПВСПОП) для этой группы – 2015,9 г. (95% ДИ – от 2012,1 до 2016,93 г.), ОАВ группы – 1,0.

Изоляты 1299/143/2021/Volgograd и 1299/148/2021/Volgograd проявляют наибольшее родство с изолятами, выявленными ранее во Владимирской, Липецкой, Нижегородской и Рязанской областях (более 98,67%). ПВСПОП для этой группы – 2007,95 г. (95% ДИ – от 2002,48 до 2009,67 г.), ОАВ группы – 1,0.

Группа изолятов (490_2/2018/Volgograd, 1299/138/2021/Volgograd, 1299/139/2021/Volgograd, 1563/2018/Volgograd) проявляет наибольшее родство (более 98,9%) с изолятами, выявленными ранее в Нижегородской и Липецкой областях (но уже с другими, чем в предыдущих случаях). ПВСПОП для этой группы – 2001,43 г. (95% ДИ – от 1994,02 до 2002,65 г.), ОАВ группы – 1,0.

Еще пять изолятов из Волгоградской области (1299/142/2021/Volgograd, 1299/147/2021/Volgograd, 1299/141/2021/Volgograd, 1299/144/2021/Volgograd, 1299/146/2021/Volgograd) образуют группу с высокой

ОАВ (1,0) с изолятами из Белгородской, Липецкой, Рязанской, Смоленской, Курской, Нижегородской, Московской областей, а также с изолятами, выявленными на территории других государств – Молдовы, Украины и Польши. Примечательно, что эта относительно плотная в генетическом отношении группа занимает чрезвычайно обширный ареал, простирающийся как минимум с севера на юг на 1000 км и с запада на восток на 2000 км. ПВСПОП для этой группы – 1996,13 г. (95% ДИ – от 1989,12 до 2003,42 г.).

Изолят 1299/145/2021/Volgograd генетически значительно отличается от других волгоградских изолятов и наибольшее (хотя и не слишком близкое) родство проявляет с изолятами, выявленными в Астраханской области (98,74%). Он образует группу, поддерживаемую высокой ОАВ (0,98), с изолятами вируса бешенства, выявленными в Оренбургской и Астраханской областях, а также в Казахстане. ПВСПОП для этой группы – 1978,98 г. (от 1974,35 до 1983,97 г.).

Два изолята (2070f и 2072f), выявленные в Волгоградской области I. V. Kuzmin et al. [3] в 2003 г., значительно отличаются от изучаемых изолятов из этого региона. Изолят 2070f образует группу с изолятом 1350/2008/Krasnodar из Краснодарского края (ОАВ – 1,0; ПВСПОП – 1984,33 г.; 95% ДИ – от 1977,17 до 1989,78 г.), а у изолята 2072f, хотя и наблюдается генетическое родство с изолятом 2070f (99,1%), однако эта группа имеет очень низкую поддержку ОАВ – 0,19.

Количество исследованных изолятов от разных групп животных примерно соответствует структуре заболеваемости за 2020–2024 гг. Более половины из них получены от собак и кошек (табл. 2).

Таким образом, основной характеристикой популяции вируса бешенства в Волгоградской области является сильно выраженная гетерогенность, возможно, максимальная для регионов, изученных на данный момент достаточно хорошо. При этом практически все представители волгоградской популяции возбудителя бешенства имеют близких родственников в других регионах России и зарубежья, что говорит об активном

перемещении вируса. Согласно литературным данным, нарастание эпизоотической напряженности имело место в Волгоградской области в 1988, 1991, 1997, 1998 и 2001 гг. [17]. Представители волгоградской популяции

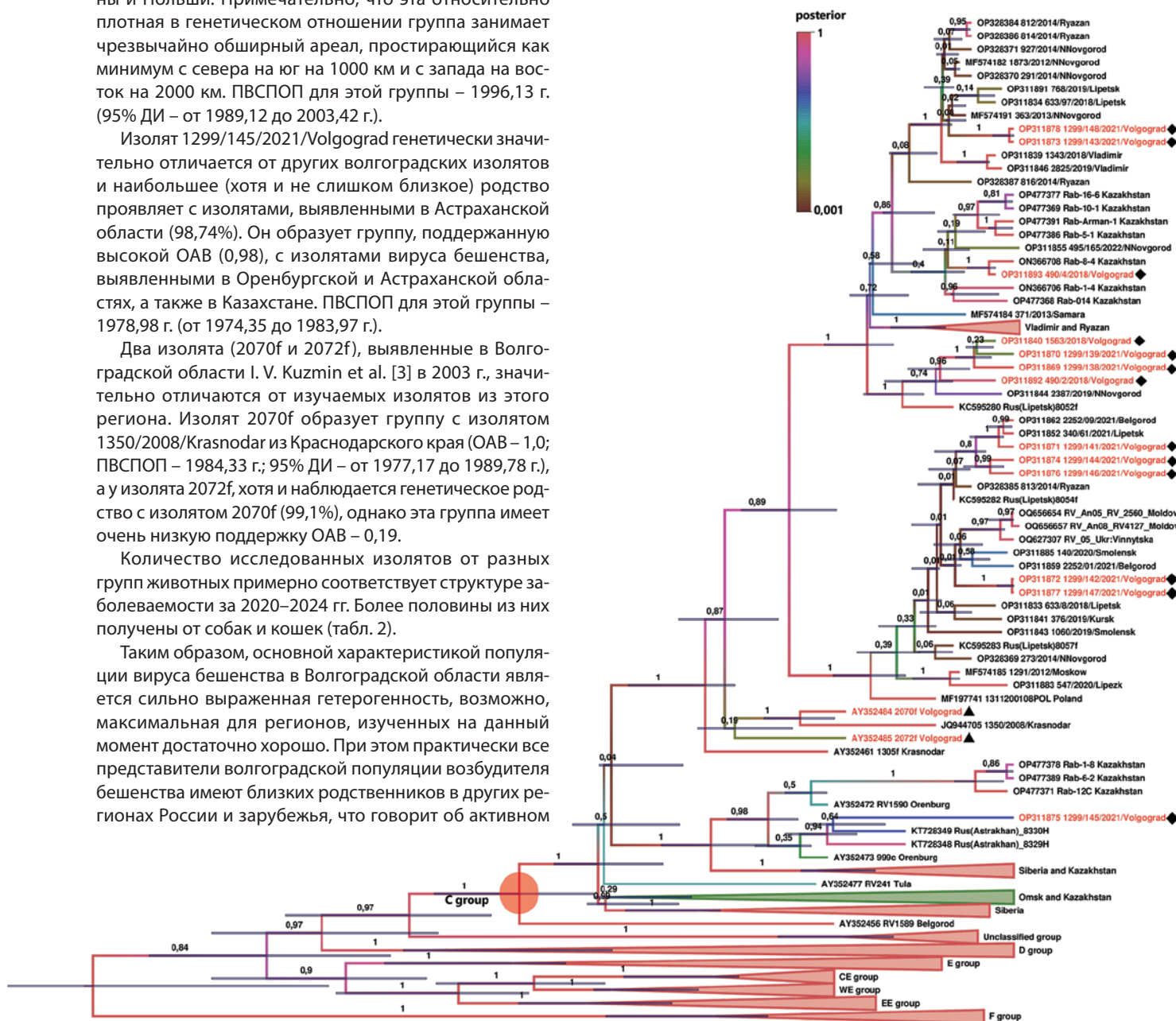


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное с использованием полноразмерной нуклеотидной последовательности гена N вируса бешенства и алгоритма строгих молекулярных часов. Изоляты, выделенные от животных на территории Волгоградской области, обозначены красным шрифтом. Цифрами от 0 до 1 даны значения апостериорной вероятности выделения той или иной группы; этот же показатель обозначен цветом ветвей (расшифровка цвета дана на дополнительной шкале).

Горизонтальная временная шкала внизу показывает годы существования последнего общего предка для той или иной группы, в узлах дерева синей полосой показаны 95% ДИ для этого значения. Розовым кругом обозначен последний общий предок представителей генетической группы С. Черными ромбами маркированы изучаемые изоляты, треугольниками – два ранее изученных изолята, выделенных на территории Волгоградской области

Fig. 2. Phylogenetic tree constructed using the full-length nucleotide sequence of RABV N gene and a strict molecular clock algorithm. Isolates collected from animals in the Volgograd Oblast are highlighted in red. Numbers (0–1) indicate posterior probability values for specific groups; the same parameter is indicated with the color of branches (see color scale for interpretation). The horizontal timeline at the bottom shows the estimated years of the most recent common ancestor for this or that group, with blue bars at nodes representing 95% confidence intervals for this value. The pink circle marks the most recent common ancestor of genetic group C. Black diamonds denote the studied isolates, while triangles represent two previously characterized isolates from the Volgograd Oblast

Таблица 2
Сведения о подтверждении бешенства у животных в Волгоградской области (2020–2024*) и источниках получения изолятов вируса для филогенетического анализа

Table 2
Data on rabies confirmation in animals from the Volgograd Region (2020–2024*) and sources of virus isolates for phylogenetic analysis

Категории животных	Подтверждено случаев бешенства		Исследовано изолятов	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Сельскохозяйственные животные (крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошадь)	42	23,3	3	23,1
Домашние плотоядные (собака, кошка)	109	60,6	8	61,5
Дикие плотоядные (лисица, волк и др.)	29	16,1	2	15,4
Итого	180	100	13	100

* Данные за 9 мес. 2024 г. (data for 9 months of 2024).

вируса бешенства относятся к разным генетическим вариантам, которые сформировались в разное время, на что указывает предположительный возраст последнего общего предка для этих вариантов. Возможно, пики эпизоотической напряженности совпадают по времени с распространением новых вариантов, после чего они «закрепляются» среди восприимчивых хозяев на определенной территории, продолжают эволюционировать и к настоящему времени дают такой пестрый генетический профиль популяции.

Обращают на себя внимание особенности локализации разных подгрупп вируса бешенства. Волгоградская область занимает срединную часть юго-востока Русской (Восточно-Европейской) равнины в пределах трех природных зон: лесостепной, степной и полупустынной [25]. Изоляты, собранные в лесостепных и степных районах северной части Волгоградской области на правом берегу Волги (490_2/2018/Volgograd, 1563/2018/Volgograd, 1299/138/2021/Volgograd, 1299/139/2021/Volgograd, 1299/143/2021/Volgograd, 1299/144/2021/Volgograd, 1299/148/2021/Volgograd), имеют генетическое родство с изолятами из Среднего Поволжья и центральных регионов России. Вероятно, этому способствует отсутствие естественных барьеров для миграций диких плотоядных в северном направлении. Смежные территории характеризуются достаточно высокой численностью лисицы [26]. Изоляты вируса бешенства 1299/141/2021/Volgograd, 1299/142/2021/Volgograd, 1299/147/2021/Volgograd, имеющие сходство с изолятами, обнаруженными на Украине, в Молдове, Польше, западных и центральных регионах европейской части России, выявлены в юго-западной части Волгоградской области на правом берегу Цимлянского водохранилища. Изоляты с левобережья Волги (490_4/2018/Volgograd, 1299/145/2021/Volgograd) генетически близки к изолятам с территорий, граничащих с Волгоградской областью на юге и востоке, что обусловлено общностью ландшафтов с полупустынями и сухими степями Казахстана и Астраханской области. Широкие водные преграды (Цимлянское, Волгоградское водохранилища и Волго-Донской канал), пересекающие всю область с северо-востока на юго-запад, замерзают на 2–3 мес. в году [25] и в течение большей части года представляют естественный барьер для распростра-

нения бешенства. В нашем распоряжении было всего 2 изолята с левобережья Волги, но оба отличались от изолятов с правого берега. Так, изолят 1299/145/2021/Volgograd, выявленный в Быковском районе Волгоградской области, группируется с изолятами, обнаруженными в Оренбургской и Астраханской (точное место происхождения изолятов неизвестно) областях, а также в Казахстане. Изолят 490/4/2018/Volgograd, выявленный в Палласовском районе Волгоградской области, имеет несколько близкородственных изолятов из Казахстана и один (что составляет единственное исключение) – из Нижегородской области. Районы с наиболее высокими показателями заболеваемости животных бешенством (Николаевский, Быковский, Ленинский, Октябрьский) [19] расположены на левом берегу Волги. Волго-Ахтубинская пойма, по-видимому, служит значимым экологическим руслом, связывающим Волгоградскую и Астраханскую области, что подтверждается генетическим сходством изолятов с этих территорий (1299/145/2021/Volgograd). Ограниченное количество исследованных изолятов не позволяет сделать более определенных выводов. Тем не менее полученные результаты заслуживают внимания для продолжения исследований и планирования мероприятий по оральной вакцинации лисиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все изученные изоляты вируса бешенства, выделенные от животных на территории Волгоградской области, отнесены к генетической группе С. В пределах этой линии популяция возбудителя бешенства в Волгоградской области отличается чрезвычайно высокой генетической вариабельностью. Генетическое родство изолятов из этого региона с изолятами из Казахстана, Молдовы, центральных и южных регионов России, с Украины свидетельствует об интенсивном перемещении хозяев вируса бешенства. Это обстоятельство необходимо учитывать при организации противозооотических мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жебрун А. Б. От молекулярной к геномной и метагеномной эпидемиологии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 91 (3): 91–100. <https://elibrary.ru/vobdlt>
2. Акимкин В. Г., Семенов Т. А., Хафизов К. Ф., Углева С. В., Дубоделов Д. В., Колосовская Е. Н. Стратегия геномного эпидемиологического надзора. Проблемы и перспективы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024; 101 (2): 163–172. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-507>
3. Kuzmin I. V., Botvinkin A. D., McElhinney L. M., Smith J. S., Orciari L. A., Hughes G. J., et al. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *Journal of Wildlife Diseases*. 2004; 40 (4): 617–631. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.4.617>
4. Чупин С. А., Чернышова Е. В., Метлин А. Е. Генетическая характеристика полевых изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Российской Федерации в период 2008–2011 гг. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58 (4): 44–49. <https://elibrary.ru/rqyqth>
5. Chupin S. A., Sprygin A. V., Zinyakov N. G., Guseva N. A., Shcherbinin S. V., Korennoy F. I., et al. Phylogenetic characterization of rabies virus field isolates collected from animals in European Russian regions in 2009–2022. *Microorganisms*. 2023; 11 (10):2526. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102526>
6. Deviatkin A. A., Lukashov A. N., Poleshchuk E. M., Dedkov V. G., Tkachev S. E., Sidorov G. N., et al. The phylodynamics of the rabies virus in the Russian Federation. *PLoS ONE*. 2017; 12 (2):e0171855. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171855>
7. Полещук Е. М., Сидоров Г. Н., Нашатырева Д. Н., Градобоева Е. А., Пакскина Н. Д., Попова И. В. Бешенство в Российской Федерации: информационно-аналитический бюллетень. Омск: Издательский центр КАН; 2019. 110 с. <https://elibrary.ru/bouwsw>

8. Smreczak M., Orłowska A., Trębas P., Stolarek A., Freuling C., Müller T. Re-emergence of rabies in Mazowieckie Voivodeship, Poland, 2021. *Zoonoses and Public Health*. 2023; 70 (1): 111–116. <https://doi.org/10.1111/zph.13005>
9. Picard-Meyer E., Robardet E., Moroz D., Trotsenko Z., Drozhzhe Z., Biarnais M., et al. Molecular epidemiology of rabies in Ukraine. *Archives of Virology*. 2012; 157: 1689–1698. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1351-6>
10. Liu Y., Zhang S., Zhao J., Zhang F., Li N., Lian H., et al. Fox- and raccoon-dog-associated rabies outbreaks in northern China. *Virologica Sinica*. 2014; 29 (5): 308–310. <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3484-0>
11. Yessembekova G. N., Xiao Sh., Abenov A., Karibaev T., Shevtsov A., Asylulan A., et al. Molecular epidemiological study of animal rabies in Kazakhstan. *Journal of Integrative Agriculture*. 2023; 22 (4): 1266–1275. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.11.011>
12. Steck F., Wandeler A. The epidemiology of fox rabies in Europe. *Epidemiologic Reviews*. 1980; 2 (1): 71–96. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a036227>
13. Селимов М. А. Бешенство. М.: Медицина; 1978. 336 с.
14. Botvinkin A., Kosenko M. Rabies in the European parts of Russia, Belarus and Ukraine. In: *Historical Perspective of Rabies in Europe and the Mediterranean Basin*. Eds. A. A. King, A. R. Fooks, M. Aubert, A. I. Wandeler. Paris: OIE; 2004; 47–63.
15. Полещук Е. М., Сидоров Г. Н. Анализ особенностей эпизоотолого-эпидемической ситуации и риск заражения бешенством в Российской Федерации в начале XXI века. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (4): 16–25. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-4-16-25>
16. Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2022. 442 с.
17. Авиллов В. М., Соцнев В. В., Саввин А. В., Горячев И. И., Алиев А. А. Функционирование паразитарной системы бешенства в субъектах федерации Поволжского экономического района. *Ветеринарная патология*. 2004; (3): 127–134. <https://elibrary.ru/hsoxed>
18. Савченко С. Т., Чайка А. Н., Ромасова Е. И., Масленникова Г. Ф., Махонин А. А., Фролова Г. И. и др. Состояние эпидемиологической и эпизоотологической ситуации в Волгоградской области по природно-очаговому и особо опасным инфекциям. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2 (1–2): 192. <https://iimmun.ru/iimm/article/view/90/89>
19. Аликова Г. А., Соцнев В. В., Авиллов В. М., Козыренко О. В., Суворин В. В., Пашкина Ю. В. и др. Зоны риска рабической инфекции в Волгоградской области. *Главные эпизоотологические параметры популяции животных: сборник научных трудов ФГБОУ ВПО НГСХА, представленных на 2-й сессии Международной научно-практической конференции (Нижний Новгород, 5–6 февраля 2014 г.)*. Т. 1. Нижний Новгород: БИКАР; 2015; 312–319. <https://elibrary.ru/tqijur>
20. Невинский А. Б., Арова А. А., Хлынина Ю. О. Клинический случай бешенства в Волгоградской области. *Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: сборник трудов XIII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского (Москва, 24–26 мая 2021 г.)*. М: Медицинское маркетинговое агентство; 2021; 120–121. <https://elibrary.ru/jgusgf>
21. Suchard M. A., Lemey P., Baele G., Ayres D. L., Drummond A. J., Rambaut A. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*. 2018; 4 (1):vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>
22. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018; 35 (6): 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
23. Rambaut A., Drummond A. J., Xie D., Baele G., Suchard M. A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*. 2018; 67 (5): 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
24. Sauvage T., Plouviez S., Schmidt W. E., Fredericq S. TREE2FASTA: a flexible Perl script for batch extraction of FASTA sequences from exploratory phylogenetic trees. *BMC Research Notes*. 2018; 11:164. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3268-y>
25. Рябинина Н. О. Природа и ландшафты Волгоградской области: монография. Волгоград: ВолГУ; 2015. 370 с.
26. Кинер Т. В., Зайцев В. А. Структура ареала обыкновенной лисицы (*Vulpes vulpes* L.) в лесной зоне Восточной Европы. *Сибирский экологический журнал*. 2010; 17 (1): 163–172. <https://elibrary.ru/ldflib>
3. Kuzmin I. V., Botvinkin A. D., McElhinney L. M., Smith J. S., Orciari L. A., Hughes G. J., et al. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *Journal of Wildlife Diseases*. 2004; 40 (4): 617–631. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.4.617>
4. Chupin S. A., Chernyshova E. V., Metlin A. E. Genetic characterization of the rabies virus field isolates detected in Russian Federation within the period 2008–2011. *Problems of Virology*. 2013; 58 (4): 44–49. <https://elibrary.ru/rqgyth> (in Russ.)
5. Chupin S. A., Sprygin A. V., Zinyakov N. G., Guseva N. A., Shcherbinin S. V., Korennoy F. I., et al. Phylogenetic characterization of rabies virus field isolates collected from animals in European Russian regions in 2009–2022. *Microorganisms*. 2023; 11 (10):2526. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102526>
6. Deviatkin A. A., Lukashov A. N., Poleshchuk E. M., Dedkov V. G., Tkachev S. E., Sidorov G. N., et al. The phylodynamics of the rabies virus in the Russian Federation. *PLoS ONE*. 2017; 12 (2):e0171855. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171855>
7. Poleshchuk E. M., Sidorov G. N., Nashatyeva D. N., Gradoboeva E. A., Paksina N. D., Popova I. V. Rabies in the Russian Federation: research and information newsletter. Omsk: Publishing Center KAN; 2019. 110 p. <https://elibrary.ru/bouwsu> (in Russ.)
8. Smreczak M., Orłowska A., Trębas P., Stolarek A., Freuling C., Müller T. Re-emergence of rabies in Mazowieckie Voivodeship, Poland, 2021. *Zoonoses and Public Health*. 2023; 70 (1): 111–116. <https://doi.org/10.1111/zph.13005>
9. Picard-Meyer E., Robardet E., Moroz D., Trotsenko Z., Drozhzhe Z., Biarnais M., et al. Molecular epidemiology of rabies in Ukraine. *Archives of Virology*. 2012; 157: 1689–1698. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1351-6>
10. Liu Y., Zhang S., Zhao J., Zhang F., Li N., Lian H., et al. Fox- and raccoon-dog-associated rabies outbreaks in northern China. *Virologica Sinica*. 2014; 29 (5): 308–310. <https://doi.org/10.1007/s12250-014-3484-0>
11. Yessembekova G. N., Xiao Sh., Abenov A., Karibaev T., Shevtsov A., Asylulan A., et al. Molecular epidemiological study of animal rabies in Kazakhstan. *Journal of Integrative Agriculture*. 2023; 22 (4): 1266–1275. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.11.011>
12. Steck F., Wandeler A. The epidemiology of fox rabies in Europe. *Epidemiologic Reviews*. 1980; 2 (1): 71–96. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a036227>
13. Selimov M. A. Rabies. Moscow: Meditsina; 1978. 336 p. (in Russ.)
14. Botvinkin A., Kosenko M. Rabies in the European parts of Russia, Belarus and Ukraine. In: *Historical Perspective of Rabies in Europe and the Mediterranean Basin*. Eds. A. A. King, A. R. Fooks, M. Aubert, A. I. Wandeler. Paris: OIE; 2004; 47–63.
15. Poleshchuk E. M., Sidorov G. N. Comparative analysis of features of epizootological and epidemic situation and risk of rabies infection in the Russian Federation in early XXI century. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; (4): 16–25. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-4-16-25> (in Russ.)
16. Gruzdev K. N., Metlin A. Ye. Animal Rabies. 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: Federal Center for Animal Health; 2022. 442 p. (in Russ.)
17. Avilov V. M., Sochnev V. V., Savvin A. V., Goryachev I. I., Aliiev A. A. Funktsionirovanie parazitarnoi sistemy beshestva v sub'ektakh federatsii Povolzhskogo ekonomicheskogo raiona = Functioning of the rabies parasitic system in the Federal Subjects of the Volga Economic Region. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2004; (3): 127–134. <https://elibrary.ru/hsoxed> (in Russ.)
18. Savchenko S. T., Chaika A. N., Romasova E. I., Maslennikova G. F., Maikhonin A. A., Frolova G. I., et al. Sostoyanie epidemiologicheskoi i epizootologicheskoi situatsii v Volgogradskoi oblasti po prirodno-ochagovym i osobo opasnym infektsiyam = Epidemiological and epizootological situation on sylvatic cycle diseases and highly dangerous infections in Volgograd Oblast. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2012; 2 (1–2): 192. <https://iimmun.ru/iimm/article/view/90/89> (in Russ.)
19. Alikova G. A., Sochnev V. V., Avilov V. M., Kozыrenko O. V., Suvorin V. V., Pashkina Yu. V., et al. Rabies infection risk zones in Volgograd region. *Glavnye epizootologicheskie parametry populyatsii zhivotnykh: sbornik nauchnykh trudov FGBOU VPO NGSKHA, predstavlenykh na 2-i sessii Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Nizhnyy Novgorod, 5–6 fevralya 2014 g.)* = Key epizootological parameters of animal populations: proceedings of the Nizhny Novgorod State Agricultural Academy presented at the 2nd Session of the International Scientific-Practical Conference (Nizhny Novgorod, 5–6 February 2014). Vol. 1. Nizhny Novgorod: BIKAR; 2015; 312–319. <https://elibrary.ru/tqijur> (in Russ.)
20. Nevinskiy A. B., Arova A. A., Khllynina Yu. O. Klinicheskii sluchai beshestva v Volgogradskoi oblasti = Clinical rabies case in Volgograd Oblast. *Infektsionnye bolezni v sovremennom mire: evolyutsiya, tekushchie i budushchie ugrozy: sbornik trudov XIII Ezhгодного Vserossiiskogo kongressa po infektsionnym boleznyam imeni akademika V. I. Pokrovskogo (Moskva, 24–26 maya 2021 g.)* = Infectious Diseases in the Modern World: Evolution, Current and Future Threats: proceedings of the XIII Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases named after Academician V. I. Pokrovsky (Moscow,

REFERENCES

24–26 May 2021). Moscow: Meditsinskoe marketingovoe agentstvo; 2021; 120–121. <https://elibrary.ru/jgusgf> (in Russ.)

21. Suchard M. A., Lemey P., Baele G., Ayres D. L., Drummond A. J., Rambaut A. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*. 2018; 4 (1):vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>

22. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018; 35 (6): 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

23. Rambaut A., Drummond A. J., Xie D., Baele G., Suchard M. A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*. 2018; 67 (5): 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>

24. Sauvage T., Plouviez S., Schmidt W. E., Fredericq S. TREE2FASTA: a flexible Perl script for batch extraction of FASTA sequences from exploratory phylogenetic trees. *BMC Research Notes*. 2018; 11:164. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3268-y>

25. Ryabinina N. O. Nature and landscapes of Volgograd Oblast: monograph. Volgograd: Volgograd State University; 2015. 370 p. (in Russ.)

26. Kiener T. V., Zaitsev V. A. Population density and dispersal of the red fox (*Vulpes vulpes* L.) in the forest biom of Eastern Europe. *Contemporary Problems of Ecology*. 2010; 3 (1): 119–126. <https://doi.org/10.1134/S1995425510010194>

Поступила в редакцию / Received 02.06.2025

Поступила после рецензирования / Revised 16.07.2025

Принята к публикации / Accepted 04.08.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Чупин Сергей Александрович, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и BSE, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2114-5589>, chupin@arriah.ru

Чернышова Елена Владимировна, канд. вет. наук, заведующий референтной лабораторией по бешенству и BSE, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4054-8532>, chernishova@arriah.ru

Чернышев Роман Сергеевич, канд. биол. наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3604-7161>, chernishev_rs@arriah.ru

Груздев Константин Николаевич, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, gruzdev@arriah.ru

Спиридонов Артем Николаевич, канд. вет. наук, руководитель информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; spiridonov@arriah.ru

Варкентин Андрей Владимирович, канд. вет. наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9732-1083>, varkentin@arriah.ru

Назаров Николай Алексеевич, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8224-2454>, nazarov_na@arriah.ru

Зарва Иван Дмитриевич, канд. мед. наук, заведующий кафедрой эпидемиологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, г. Иркутск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>, ivan_zarva@mail.ru

Ботвинкин Александр Дмитриевич, д-р мед. наук, профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, г. Иркутск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1324-7374>, botvinkin_ismu@mail.ru

Sergei A. Chupin, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2114-5589>, chupin@arriah.ru

Elena V. Chernyshova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4054-8532>, chernishova@arriah.ru

Roman S. Chernyshev, Cand. Sci. (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3604-7161>, chernishev_rs@arriah.ru

Konstantin N. Gruzdev, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, gruzdev@arriah.ru

Artem N. Spiridonov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Information and Analysis Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; spiridonov@arriah.ru

Andrey V. Varkentin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Center, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9732-1083>, varkentin@arriah.ru

Nikolay A. Nazarov, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8224-2454>, nazarov_na@arriah.ru

Ivan D. Zarva, Cand. Sci. (Medicine), Head of Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>, ivan_zarva@mail.ru

Aleksandr D. Botvinkin, Dr. Sci. (Medicine), Professor of Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1324-7374>, botvinkin_ismu@mail.ru

Вклад авторов: Чупин С. А. – формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач, проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста; Чернышова Е. В. – принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и за ее окончательный вариант; Чернышев Р. С. – применение статистических методов филогенетического анализа, подготовка рисунков, обсуждение результатов; Груздев К. Н. – научное консультирование, редактирование текста статьи; Спиридонов А. Н. – сбор статистических данных; Варкентин А. В. – сбор статистических данных; Назаров Н. А. – научное консультирование; Зарва И. Д. – подготовка рисунков, картография; Ботвинкин А. Д. – формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста.

Contribution of the authors: Chupin S. A. – conceptualization; formulation and development of key objectives and tasks, conducting research; analysis and interpretation of obtained data; text preparation and editing; Chernyshova E. V. – responsibility for all aspects of the work, ensuring integrity of all parts of the article and its final version; Chernyshev R. S. – application of phylogenetic statistical methods, preparation of figures, discussion of results; Gruzdev K. N. – scientific consulting, editing of the manuscript; Spiridonov A. N. – collection of statistical data; Varkentin A. V. – collection of statistical data; Nazarov N. A. – scientific consulting; Zarva I. D. – figure preparation, mapping; Botvinkin A. D. – conceptualization; formulation and development of key objectives and tasks; analysis and interpretation of obtained data; text preparation and editing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-249-254>

УДК 619:616.98: 578.824.11:616-076:577.2:001.893

Разработка системы внутреннего контроля на основе штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни при диагностике бешенства методом ОТ-ПЦР

С. А. Чупин

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. На достоверность результатов, получаемых при проведении ПЦР-диагностики, могут влиять такие факторы, как ошибки оператора, неполадки в работе амплификатора, наличие в образце ингибиторов реакции, низкое качество реактивов и другое. Все это может приводить к появлению так называемых ложноотрицательных результатов.

Цель исследования. Разработка системы внутреннего контроля на основе гетерологичного вируса ньюкаслской болезни при детекции вируса бешенства методом полимеразной цепной реакции.

Материалы и методы. В качестве внутреннего контрольного образца использовалась «Вакцина против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» сухая живая» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (Россия). РНК из образцов выделяли с помощью набора реагентов «РИБО-сорб» (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия). Для полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией использовали реактивы фирмы Promega (США) и олигонуклеотиды производства ООО «Синтол» (Россия).

Результаты. В качестве объекта для внутреннего контрольного образца выбран штамм «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни. Проведен дизайн праймеров. В серии экспериментов установлено, что ПЦР-система для внутреннего контрольного образца не конкурирует с ПЦР-системой для вируса бешенства при их совместном использовании. Оптимизированы основные параметры обратной транскрипции и полимеразной реакции. Проведена валидация разработанной методики, в ходе которой определялись такие характеристики, как правильность, специфичность, чувствительность, промежуточная прецизионность в условиях повторяемости (сходимость) и промежуточная прецизионность в условиях воспроизводимости (воспроизводимость). По результатам валидации полученные характеристики метода соответствуют требуемым.

Заключение. На основе штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни разработана система внутреннего контрольного образца для использования совместно с методикой выявления вируса бешенства методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, позволяющая контролировать ход всех этапов анализа в каждой реакционной пробирке. Данная система при надлежащей оптимизации потенциально может применяться также в экспериментальных научных исследованиях в соответствующих профильных научных организациях при ПЦР-диагностике заболеваний, вызываемых другими РНК-содержащими вирусами.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией, вирус бешенства, внутренний контрольный образец, вирус ньюкаслской болезни, диагностика

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Чупин С. А. Разработка системы внутреннего контроля на основе штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни при диагностике бешенства методом ОТ-ПЦР. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 249–254. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-249-254>

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Чупин Сергей Александрович, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ», ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, chupin@arria.ru

Construction of Newcastle disease virus LaSota strain-based internal sample for rabies diagnosis with RT-PCR

Sergei A. Chupin

Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Introduction. The following factors can impact the reliability of polymerase chain reaction diagnosis: operator errors, amplifier malfunction, presence of reaction inhibitors in the sample, poor reagent quality and others. All this can lead to the so-called false negative results.

Objective. Construction of the internal control based on heterologous Newcastle disease virus for detection of rabies virus by polymerase chain reaction.

Materials and methods. Dry live vaccine against Newcastle disease based on LaSota strain produced by the Federal Centre for Animal Health (Russia) was used as an internal control. RNA extraction from samples was performed with "Ribosorb" reagent kit (Central Research Institute for Epidemiology of the Rospotrebnadzor, Russia). Promega Corporation reagents (USA) and oligonucleotides manufactured by the Syntol Company (Russia) were used for the reverse transcription polymerase chain reaction.

© Чупин С. А., 2025

Results. LaSota strain of Newcastle disease virus was selected as the target for the internal control. The primers were designed. Experiments showed that the PCR system for the internal control did not compete with the PCR system for the rabies virus when they were used together. The main parameters of reverse transcription and polymerase reaction were optimized. The developed method was validated using several key parameters: correctness, specificity, sensitivity, repeatability (intermediate precision under same conditions), and reproducibility (intermediate precision under different conditions). Validation results have shown that the method characteristics comply with the required ones.

Conclusion. Newcastle disease virus LaSota strain-based internal control has been constructed for use together with reverse transcription polymerase chain reaction assay for rabies virus detection that allows control of the assay stages in each reaction tube. This internal control after its proper optimization can be also used in experimental studies carried out at relevant research institutions for PCR diagnosis of the diseases caused by other RNA-containing viruses.

Keywords: reverse transcription polymerase chain reaction, rabies virus, internal control, Newcastle disease virus, NDV, diagnosis

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health within the research topic "Veterinary Welfare".

For citation: Chupin S. A. Construction of Newcastle disease virus LaSota strain-based internal sample for rabies diagnosis with RT-PCR. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 249–254. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-249-254>

Conflict of interests: The author declares no conflict of interests.

For correspondence: Sergei A. Chupin, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, chupin@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

На достоверность результатов, получаемых при проведении ПЦР-диагностики, могут влиять такие факторы, как ошибки оператора, неполадки в работе амплификатора, наличие в образце ингибиторов полимеразной цепной реакции (ПЦР), низкое качество реактивов и другое [1]. Все это может приводить к появлению так называемых ложноотрицательных результатов, когда в ходе анализа получают отрицательный результат, несмотря на то что искомым агент содержится в анализируемом образце. Одним из самых действенных методов, направленных на то, чтобы сделать ПЦР-анализ более достоверным, является использование внутренних контрольных образцов (ВКО) [2]. ВКО – это определенный объект, содержащий нуклеиновую кислоту, который добавляется к тестируемому образцу и проходит вместе с ним все или некоторые этапы анализа. При этом происходит специфическая амплификация фрагмента нуклеиновой кислоты этого объекта, по наличию которой можно судить о надлежащем ходе анализа.

К настоящему времени в литературе описано достаточное количество методов обнаружения генома вируса бешенства на основе ПЦР, как в ее классическом варианте [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9], так и в варианте «в режиме реального времени» [10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18]. Однако использование ВКО включают только некоторые из них.

В целом ВКО широко применяется при ПЦР-диагностике различных патогенов. При этом существуют различные стратегии дизайна ВКО. Так, J. Coertse et al. использовали искусственно синтезированную РНК, последовательность которой соответствовала фрагменту генома вируса бешенства штамма CVS [19]. Smith J. et al. в качестве внутреннего контроля использовали рибосомальную РНК, которая, по их утверждению, имеет кинетику деградации, сходную с вирусной РНК [20]. В ряде работ описано применение ВКО из бактериофага MS2 [21, 22, 23, 24]. Наряду с этим использовались также полученные генно-инженерным способом вирусоподобные частицы [25, 26, 27]. Одним из классических объектов для ВКО являются плазмиды, содержащие вставку с участками, отвечающими прай-

мерам для целевой ПЦР [28, 29, 30, 31]. Также описан метод использования ВКО на основе гетерологичных вирусов [32, 33].

На протяжении ряда лет в референтной лаборатории по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) для обнаружения вируса бешенства наряду с прочими методами используется метод на основе ПЦР, разработанный и описанный А. Е. Metlin et al. [34], обладающий высокой чувствительностью и специфичностью и дающий стабильные результаты. Современные стандарты, однако, накладывают требования увеличения степени достоверности результатов. Поэтому в целях повышения качества исследований была поставлена цель разработки и внедрения в ПЦР-диагностику бешенства использования ВКО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом служили образцы головного мозга животных, поступающие на исследование на наличие вируса бешенства в референтную лабораторию по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир).

Для оптимизации полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и в качестве положительного контрольного образца использовался штамм вируса бешенства «ВНИИЗЖ» из коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» с инфекционной активностью в культуре клеток $6,0 \text{ IgTCID}_{50}/\text{см}^3$.

В качестве ВКО применялась «Вакцина против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» сухая живая», фасовка 4000 доз, содержание вируса ньюкаслской болезни – $4 \times 10^{9,7} \text{ ЭИД}_{50}$ (ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир).

РНК из образцов выделяли с помощью набора реагентов «РИБО-сорб» (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкции производителя.

ОТ-ПЦР осуществляли, как описано А. Е. Metlin et al. [34].

Для дизайна праймеров использовали программу Amplicon (версия b08) [35] и последовательность штамма вируса ньюкаслской болезни «Ла-Сота» (номер доступа в базе данных GenBank – JF950510).

Для постановки ОТ-ПЦР применяли реагенты фирмы Promega (США).

Праймеры были синтезированы в ООО «Синтол» (Россия).

Анализ продуктов ПЦР осуществляли с помощью электрофореза в 2%-м агарозном геле, содержащем бромистый этидий. Для фиксации электрофореграммы использовали гель-документирующую систему GelDoc (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Полученные ампликоны секвенировали с применением праймеров, которые использовались в ОТ-ПЦР, и набора BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США) на капиллярном ДНК-секвенаторе ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, США).

Для проведения валидации в качестве положительного стандартного контрольного образца был использован штамм РВ-97 вируса бешенства (получен из коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ»), в качестве отрицательного стандартного контрольного образца – дистиллированная вода. Положительными контрольными образцами служили пробы головного мозга различных животных, наличие вируса бешенства в которых было подтверждено в реакции иммунофлюоресценции (РИФ). В качестве отрицательных контрольных образцов были использованы образцы головного мозга различных животных, отсутствие вируса бешенства в которых было подтверждено методом РИФ.

Правильность методики оценивали тестированием положительного стандартного контрольного образца в 10 повторностях и отрицательного стандартного контрольного образца в 10 повторностях.

Для определения специфичности исследовали 10 проб головного мозга, отсутствие вируса бешенства в которых было подтверждено методом РИФ. Специфичность рассчитывали как процентное отношение истинно отрицательных результатов к общему количеству исследований по формуле:

$$Sp = (IO / (IO + ЛП)) \times 100\%,$$

где IO – истинно отрицательный результат;
ЛП – ложноположительный результат.

Для определения чувствительности исследовали 10 проб головного мозга, наличие вируса бешенства в которых было подтверждено методом РИФ. Чувствительность рассчитывали как процентное отношение истинно положительных результатов к общему количеству исследований по формуле:

$$Se = (ИП / (ИП + ЛО)) \times 100\%,$$

где ИП – истинно положительный результат;
ЛО – ложноотрицательный результат.

При определении промежуточной прецизионности в условиях повторяемости (сходимость) исследовали одну положительную пробу в трех повторностях, выполненных в одних и тех же условиях измерения (оборудование, оператор, лаборатория и короткий промежуток времени, то есть в условиях повторяемости).

При определении промежуточной прецизионности в условиях воспроизводимости (воспроизводимость) исследовали одну положительную пробу в трех повторностях, выполненных при измененных условиях измерения: одним исследователем в параллельных исследованиях в течение разных дней (три дня) и двумя разными исследователями в параллельных исследованиях (в трех повторках) в течение одного дня.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из наиболее оптимальных типов системы ВКО при детекции вирусов методами молекулярной диагностики является применение гетерологичных вирусов с аналогичной структурой генома (ДНК/РНК, одна/две нити). Эта стратегия позволяет проконтролировать все стадии анализа начиная от выделения нуклеиновой кислоты, продолжая постановкой обратной транскрипции и заканчивая проведением ПЦР. При этом контрольный объект имеет максимально схожую с исследуемым природу и проходит через все стадии анализа в одном и том же реакционном сосуде (пробирке).

В качестве объекта для ВКО был выбран штамм «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни, входящий в состав сухой живой вакцины против этой болезни. Основанием для такого выбора послужило то, что, будучи представителем семейства *Paramyxoviridae*, возбудитель ньюкаслской болезни, подобно вирусу бешенства, обладает геномом из однонитевой РНК негативной полярности. Кроме того, вакцина является фактически готовым к применению препаратом ВКО и требует только разбавления водой, поэтому выпадают такие трудоемкие этапы, как культивирование и титрование вируса.

Был проведен дизайн шести различных вариантов пар праймеров. Праймеры соответствовали области генов, кодирующих нуклеопротеин, фосфопротеин и матриксный протеин, а также 3'-некодирующей области генома штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни. При дизайне праймеров учитывалась температура отжига, при которой проходит целевая реакция (55 °C). Расчетная длина фрагмента, получаемого при амплификации ВКО (около 700 п. н. для всех пар), была выбрана заведомо больше, чем длина целевого фрагмента (384 п. н.), с тем чтобы в ходе ПЦР наработка целевого фрагмента имела конкурентные преимущества перед наработкой фрагмента ВКО [36]. Специфичность дизайна праймеров была проверена с помощью интернет-сервиса Primer-BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast).

Проверка работоспособности синтезированных пар праймеров проводилась с использованием вакцины против ньюкаслской болезни из штамма вируса «Ла-Сота» (рис. 1).

По результатам проверки были выбраны три лучшие комбинации праймеров: LASF107 – LASR800, LASF2086 – LASR2793, LASF2318 – LASR3026. Каждая из этих пар была испытана вместе с целевой мишенью, чтобы определить, как две системы влияют друг на друга. Было показано, что применение двух систем в комбинации в каждом из трех вариантов не дает нежелательных эффектов. Кроме того, с помощью серии десятикратных разведений вакцины была проведена оценка аналитической чувствительности выявления ВКО с помощью выбранных пар праймеров. Наибольшую чувствительность (разведение исходной вакцины 1:10000) показала пара праймеров LASF107 – LASR800, поэтому она была окончательно выбрана для системы ВКО. Данная пара праймеров позволяет амплифицировать фрагмент генома вируса ньюкаслской болезни размером 693 нуклеотида. Специфичность получаемого в ходе амплификации фрагмента ВКО была подтверждена путем нуклеотидного секвенирования.

В серии экспериментов было установлено, что с увеличением концентрации вируса бешенства чувствительность системы обнаружения ВКО падает; с другой стороны, с увеличением концентрации ВКО чувствительность системы обнаружения вируса бешенства остается прежней. Таким образом, система праймеров для выявления ВКО не конкурирует с системой праймеров для выявления вируса бешенства, что важно при проведении экспертизы в случае, когда в материале присутствует малое количество вируса бешенства. Однако для увеличения степени надежности целевой ПЦР для ВКО была выбрана рабочая концентрация, лишь немного превосходящая минимальную, а именно 1:1000 от исходной вакцины. Пример работы двух систем праймеров в присутствии ВКО приведен на рисунке 2.

Была проведена серия экспериментов по оптимизации основных параметров обратной транскрипции и полимеразной реакции. Установлено, что оптимальными параметрами ПЦР являются: концентрация ионов магния – 3 мМ, концентрация праймеров – 40 мМ. ВКО в виде вакцины, разбавленной водой в 1000 раз, в количестве 10 мкл добавляется в испытуемый образец (50 мкл суспензии головного мозга или 100 мкл культуральной жидкости) на этапе выделения РНК.

Таким образом, была получена методика, позволяющая проводить детекцию вируса бешенства в образцах и одновременно контролировать качество анализа в каждой реакционной пробирке. При проведении анализа наряду с образцами тестируются также заведомо положительный и заведомо отрицательный образцы (содержащие и не содержащие вирус бешенства – внешние положительный и отрицательный контроль), в которые также добавляют по 10 мкл ВКО. Наличие в продуктах ПЦР фрагмента ДНК размером 693 п. н. при отсутствии фрагмента размером 384 п. н. свидетельствует о корректном проведении анализа.

С помощью полученной методики было протестировано 52 образца, положительных на наличие вируса бешенства в РИФ, и 48 отрицательных образцов. Во всех случаях результаты детекции вируса бешенства

совпали с результатами РИФ. При тестировании отрицательных образцов в продуктах ПЦР всегда присутствовал фрагмент размером 693 п. н., что свидетельствовало об амплификации фрагмента генома ВКО, то есть об отсутствии ложноположительного результата. При анализе положительных на наличие вируса бешенства образцов фрагмент размером 693 п. н. амплифицировался не всегда, что является абсолютно корректным результатом, так как целевая реакция имеет конкурентное преимущество перед реакцией с ВКО – все ресурсы в реакционной пробирке расходуются на синтез целевого фрагмента. В то же время при анализе положительных на вирус бешенства образцов в продуктах реакции всегда присутствовал фрагмент размером 384 п. н., свидетельствующий о наличии в образце вируса бешенства.

С целью установления надежности разработанной методики была проведена ее валидация, в ходе которой оценивались такие характеристики, как правильность, специфичность, чувствительность, промежуточная прецизионность в условиях повторяемости (сходимость) и промежуточная прецизионность в условиях воспроизводимости (воспроизводимость). При определении правильности для всех проб был получен результат, совпадающий со статусом пробы. Таким образом, рассчитанная правильность валидируемого метода составила 100%. При установлении специфичности все исследованные пробы с отсутствием вируса бешенства показали в валидируемом методе отрицательный результат. Следовательно, рассчитанная специфичность валидируемого метода составила 100%. При определении чувствительности все исследованные пробы с наличием вируса бешенства показали в валидируемом методе положительный результат, из чего следует, что рассчитанная чувствительность валидируемого метода составила 100%. При оценке сходимости во всех трех повторностях был получен положительный результат. Таким образом, было показано, что сходимость валидируемого метода абсолютна. При определении воспроизводимости во всех случаях были получены положительные

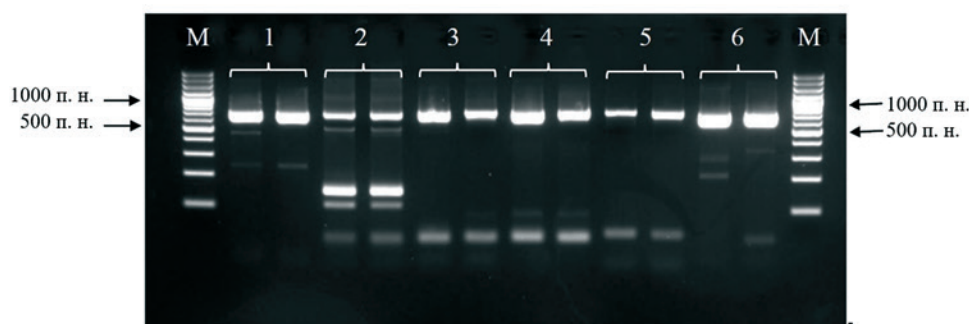


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР с различными комбинациями праймеров для амплификации фрагмента генома штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни. Каждая комбинация представлена в двух повторностях. Цифрами обозначены дорожки с комбинациями праймеров: 1 – LASF815 – LASR1500; 2 – LASF1632 – LASR2337; 3 – LASF2086 – LASR2793; 4 – LASF2318 – LASR3026; 5 – LASF2598 – LASR3296; 6 – LASF107 – LASR800. М – маркер молекулярных весов GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (ThermoFisher Scientific) с шагом длины фрагментов 100 п. н.

Fig. 1. Electropherogram of the PCR products using different combinations of primers for amplification Newcastle disease virus LaSota strain genome fragment. Each combination is given in duplicate. The numbers indicate the lanes with the following primer combinations: 1 – LASF815 – LASR1500; 2 – LASF1632 – LASR2337; 3 – LASF2086 – LASR2793; 4 – LASF2318 – LASR3026; 5 – LASF2598 – LASR3296; 6 – LASF107 – LASR800. M – molecular weight marker GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) fragment length is 100 bp

результаты. Следовательно, для валидируемого метода воспроизводимость была абсолютна. По результатам валидации полученные характеристики метода соответствуют требуемым.

При всем разнообразии применяемых для ВКО дизайнов каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Так, искусственно синтезированная РНК [19] подвержена разрушительному действию РНК-рестриктаз, которые в норме в изобилии присутствуют в образце. Рибосомальная РНК, использованная J. Smith et al. [20], за счет развитых третичных структур в принципе более устойчива к действию рестриктаз, но несколько надежно и в каком спектре условий – еще предстоит выяснять. Бактериофаг MS2, будучи вирусной частицей, лишен этого недостатка, так как обладает белковой оболочкой, защищающей его от рестриктаз. Однако культивирование фага представляет собой отдельный этап работы. Искусственно созданные вирусоподобные частицы имеют много преимуществ, включая наличие белковой оболочки, нуклеотидной последовательности генома с заданными свойствами, нужным типом нуклеиновой кислоты. В то же время создание таких частиц высокотехнологично, а поддержание трудоемко. Изготовление плазмид, которые используются в качестве ВКО во многих отечественных коммерческих диагностикмах, при налаженном производстве не требует больших экономических затрат. Однако такая стратегия ограничивает тип нуклеиновой кислоты одной лишь ДНК, а в случае использования при диагностике РНК-вирусов исключается контроль такого важного этапа, как обратная транскрипция. Одной из наиболее удачных, на наш взгляд, стратегий дизайна ВКО сочетающей в себе многие преимущества других подходов, является использование гетерологичных вирусов. Во-первых, они обладают надежной белковой оболочкой, защищающей их от действия рестриктаз. Во-вторых, можно выбрать вирус с типом нуклеиновой кислоты, как у целевого вируса (ДНК/РНК, одна/две нити). В-третьих, это уже готовые биологические объекты, и их можно сравнительно легко размножать в культуре клеток. При использовании же готового препарата в виде вакцины (как в нашем случае) исключаются даже этапы культивирования и титрования в культуре клеток.

Стоит отметить, что разработанная система ВКО на основе штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни может также применяться в имеющемся виде или после доработки (в случае несовпадения температурно-временных параметров ПЦР с целевой системой) и при ПЦР-диагностике заболеваний, вызываемых другими РНК-содержащими вирусами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе штамма «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни разработана система ВКО для использования совместно с методикой выявления вируса бешенства методом ОТ-ПЦР, позволяющая контролировать ход всех этапов анализа в каждой реакционной пробирке. Надежность работы данной системы проверена на примере клинических образцов, содержащих и не содержащих вирус бешенства. Была проведена успешная валидация разработанной системы. Данная система, при надлежащей оптимизации, потенциально может применяться также в экспериментальных научных исследованиях в соответствующих профильных научных

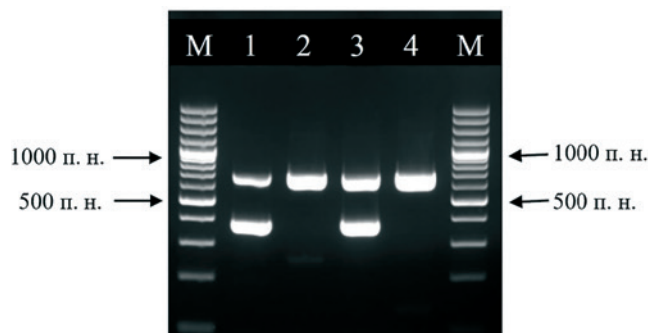


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов ПЦР с образцами, содержащими и не содержащими вирус бешенства. Цифрами 1 и 3 обозначены дорожки с образцами, содержащими вирус бешенства; цифрами 2 и 4 – не содержащими вирус бешенства. М – маркер молекулярных весов GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (ThermoFisher Scientific) с шагом длины фрагментов 100 п. н.

Fig. 2. Electropherogram of PCR products from rabies virus-positive samples and rabies virus-negative samples. The numbers 1 and 3 indicate the lanes with rabies virus-positive samples; the numbers 2 and 4 indicate the lanes with rabies virus-negative samples. M – molecular weight marker GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) fragments length is 100 bp

организациях при ПЦР-диагностике заболеваний, вызываемых другими РНК-содержащими вирусами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hoofar J., Malorny B., Abdulmawjoed A., Cook N., Wagner M., Fach P. Practical considerations in design of internal amplification controls for diagnostic PCR assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42 (5): 1863–1868. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.5.1863-1868.2004>
2. Buckwalter S. P., Sloan L. M., Cunningham S. A., Espy M. J., Uhl J. R., Jones M. F., et al. Inhibition controls for qualitative real-time PCR assays: are they necessary for all specimen matrices? *Journal of Clinical Microbiology*. 2014; 52 (6): 2139–2143. <https://doi.org/10.1128/JCM.03389-13>
3. Favoretto S. R., Martorelli L. F. A., Elkhoury M. R., Zargo A. M., Durigon E. L. Rabies virus detection and phylogenetic studies in samples from an exhumed human. *Clinical Infectious Diseases*. 2005; 41 (3): 413–414. <https://doi.org/10.1086/431766>
4. Smith J. S., Orciari L. A., Yager P. A. Molecular epidemiology of rabies in the United States. *Seminars in Virology*. 1995; 6 (6): 387–400. [https://doi.org/10.1016/S1044-5773\(05\)80016-2](https://doi.org/10.1016/S1044-5773(05)80016-2)
5. De Mattos C. C., De Mattos C. A., Loza-Rubio E., Aguilar-Setién A., Orciari L. A., Smith J. S. Molecular characterization of rabies virus isolates from Mexico: implications for transmission dynamics and human risk. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1999; 61 (4): 587–597. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.61.587>
6. Dacheux L., Reynes J. M., Buchy P., Sivuth O., Diop B. M., Rousset D., et al. A reliable diagnosis of human rabies based on analysis of skin biopsy specimens. *Clinical Infectious Diseases*. 2008; 47 (11): 1410–1417. <https://doi.org/10.1086/592969>
7. Araújo D. B., Langoni H., Almeida M. F., Megid J. Heminested reverse-transcriptase polymerase chain reaction (hnRT-PCR) as a tool for rabies virus detection in stored and decomposed samples. *BMC Research Notes*. 2008; 1:17. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-1-17>
8. David D., Yakobson B., Rotenberg D., Dveres N., Davidson I., Stram Y. Rabies virus detection by RT-PCR in decomposed naturally infected brains. *Veterinary Microbiology*. 2002; 87 (2): 111–118. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00041-x](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00041-x)
9. Heaton P. R., Johnstone P., McElhinney L. M., Cowley R., O'Sullivan E., Whitby J. E. Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997; 35 (11): 2762–2766. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2762-2766.1997>
10. Nadin-Davis S. A., Sheen M., Wandeler A. I. Development of real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction methods for human rabies diagnosis. *Journal of Medical Virology*. 2009; 81 (8): 1484–1497. <https://doi.org/10.1002/jmv.21547>
11. Wacharapluesadee S., Sutipanya J., Damrongwatanapokin S., Phumies P., Chamnanpood P., Leowijuk C., Hemachudha T. Development of a TaqMan real-time RT-PCR assay for the detection of rabies virus. *Journal*

- of *Virological Methods*. 2008; 151 (2): 317–320. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.05.004>
12. Landry M. L., Garner R., Ferguson D. Real-time nucleic acid sequence-based amplification using molecular beacons for detection of enterovirus RNA in clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (7): 3136–3139. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3136-3139.2005>
13. Hayman D. T. S., Banyard A. C., Wakeley P. R., Harkess G., Marston D., Wood J. L. N., et al. A universal real-time assay for the detection of *Lyssaviruses*. *Journal of Virological Method*. 2011; 177 (1): 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.07.002>
14. Wakeley P. R., Johnson N., McElhinney L. M., Marston D., Sawyer J., Fooks A. R. Development of a real-time, TaqMan reverse transcription-PCR assay for detection and differentiation of lyssavirus genotypes 1, 5, and 6. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (6): 2786–2792. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.6.2786-2792.2005>
15. Hoffmann B., Freuling C. M., Wakeley P. R., Rasmussen T. B., Leech S., Fooks A. R., et al. Improved safety for molecular diagnosis of classical rabies viruses by use of a TaqMan real-time reverse transcription-PCR “double check” strategy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48 (11): 3970–3978. <https://doi.org/10.1128/JCM.00612-10>
16. Wadhwa A., Wilkins K., Gao J., Condori Condori R. E., Gigante C. M., Zhao H., et al. A Pan-Lyssavirus Taqman Real-Time RT-PCR Assay for the detection of highly variable *Rabies virus* and other lyssaviruses. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2017; 11 (1): e0005258. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005258>
17. Dacheux L., Larrous F., Lavenir R., Lepelletier A., Faouzi A., Troupin C., et al. Dual combined real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for the diagnosis of lyssavirus infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2016; 10 (7): e0004812. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004812>
18. Suin V., Nazé F., Francart A., Lamoral S., De Craeye S., Kalai M., Van Gucht S. A two-step lyssavirus real-time polymerase chain reaction using degenerate primers with superior sensitivity to the fluorescent antigen test. *BioMed Research International*. 2014; 2014:256175. <https://doi.org/10.1155/2014/256175>
19. Coertse J., Weyer J., Nel L. H., Markotter W. Improved PCR methods for detection of African rabies and rabies-related lyssaviruses. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48 (11): 3949–3955. <https://doi.org/10.1128/JCM.01256-10>
20. Smith J., McElhinney L. M., Heaton P. R., Black E. M., Lowings J. P. Assessment of template quality by the incorporation of an internal control into a RT-PCR for the detection of rabies and rabies-related viruses. *Journal of Virological Methods*. 2000; 84 (2): 107–115. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(99\)00124-X](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(99)00124-X)
21. Zambenedetti M. R., Pavoni D. P., Dallabona A. C., Dominguez A. C., Poersch C. O., Fragoso S. P., Krieger M. A. Internal control for real-time polymerase chain reaction based on MS2 bacteriophage for RNA viruses diagnostics. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2017; 112 (5): 339–347. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160380>
22. Dreier J., Störmer M., Kleesiek K. Use of bacteriophage MS2 as an internal control in viral reverse transcription-PCR assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43 (9): 4551–4557. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.9.4551-4557.2005>
23. Felder E., Wölfel R. Development of a versatile and stable internal control system for RT-qPCR assays. *Journal of Virological Methods*. 2014; 208: 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.07.028>
24. Blaise-Boisseau S., Hennechart-Collette C., Guillier L., Perelle S. Duplex real-time qRT-PCR for the detection of hepatitis A virus in water and raspberries using the MS2 bacteriophage as a process control. *Journal of Virological Methods*. 2010; 166 (1–2): 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.02.017>
25. Borghetti I. A., Zambenedetti M. R., Requião L., Vieira D. S., Krieger M. A., de Cássia Pontello Rampazzo R. External control viral-like particle construction for detection of emergent arboviruses by real-time reverse-transcription PCR. *BioMed Research International*. 2019; 2019:2560401. <https://doi.org/10.1155/2019/2560401>
26. Wie Y., Yang C., Wie B., Huang J., Wang L., Meng S., et al. RNase-resistant virus-like particles containing long chimeric RNA sequences produced by two-plasmid coexpression system. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008; 46 (5): 1734–1740. <https://doi.org/10.1128/JCM.02248-07>
27. Wang X., Liu F., Jiang L., Bao Y., Xiao Y., Wang H. Use of chimeric influenza viruses as a novel internal control for diagnostic rRT-PCR assays. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016; 100 (4): 1667–1676. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7042-y>
28. Ursi J.-P., Ursi D., Ieven M., Pattyn S. R. Utility of an internal control for the polymerase chain reaction: application to detection of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical specimens. *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*. 1992; 100 (7–12): 635–639. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1992.tb03978.x>
29. Zimmermann K., Mannhalter J. W. Technical aspects of quantitative competitive PCR. *BioTechniques*. 1996; 21 (2): 268–279. <https://doi.org/10.2144/96212rv01>
30. Brightwell G., Pearce M., Leslie D. Development of internal controls for PCR detection of *Bacillus anthracis*. *Molecular and Cellular Probes*. 1998; 12 (6): 367–377. <https://doi.org/10.1006/mcpr.1998.0195>
31. Zimmermann K., Rieger M., Groß P., Turecek P. L., Schwarz H. P. Sensitive single-stage PCR using custom-synthesized internal controls. *BioTechniques*. 2000; 28 (4): 694–702. <https://doi.org/10.2144/00284st05>
32. Roux G., Ravel C., Varlet-Marie E., Jendrowiak R., Bastien P., Sterkers Y. Inhibition of polymerase chain reaction: pathogen-specific controls are better than human gene amplification. *PLoS ONE*. 2019; 14 (9): e0219276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219276>
33. Liu J., Gratz J., Amour C., Nshama R., Walongo T., Maro A., et al. Optimization of quantitative PCR methods for enteropathogen detection. *PLoS ONE*. 2016; 11 (6): e0158199. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158199>
34. Metlin A. E., Rybakov S. S., Gruzdev K. N., Neuvonen E., Cox J., Huovilainen A. Antigenic and molecular characterization of field and vaccine rabies virus strains in the Russian Federation. *Developments in Biotechnology*. 2006; 125: 33–37. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16878458>
35. Jarman S. N. Amplicon: software for designing PCR primers on aligned DNA sequences. *Bioinformatics*. 2004; 20 (10): 1644–1645. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth121>
36. Sachadyn P., Kur J. The construction and use of a PCR internal control. *Molecular and Cellular Probes*. 1998; 12 (5): 259–262. <https://doi.org/10.1006/mcpr.1998.0170>

Поступила в редакцию / Received 03.06.2025

Поступила после рецензирования / Revised 15.07.2025

Принята к публикации / Accepted 11.08.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Чупин Сергей Александрович, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и BSE, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-2114-5589>, chupin@arriah.ru

Sergei A. Chupin, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-2114-5589>, chupin@arriah.ru

Вклад автора: Чупин С. А. – формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач, проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и редактирование текста.

Contribution of the author: Chupin S. A. – conceptualization; formulation and development of the key objectives and tasks; testing; analysis and interpretation of the obtained data; paper text preparation and editing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-255-262>
УДК 619:615.331.015.8:579.842.11

Дрейф генов антибиотикорезистентности патогенных энтеробактерий на примере *Escherichia coli*

Н. В. Пименов¹, К. П. Маликова²

¹ ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. А. Скрябина), ул. Академика Скрябина, 23, г. Москва, 109472, Россия

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I» (ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ), ул. Мичурина, 1, г. Воронеж, 394087, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Широкое распространение антибиотикорезистентности среди представителей вида *Escherichia coli* является острой проблемой животноводческих и птицеводческих хозяйств, поскольку этот возбудитель является наиболее часто регистрируемым компонентом этиологической структуры желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных и птицы, а также нередко выявляется при заболеваниях других органов и систем. Уже сейчас во многих хозяйствах затруднено применение антибактериальных препаратов для лечения заболеваний, вызванных данным патогеном, ввиду циркуляции штаммов, обладающих множественной устойчивостью к большинству применяемых в ветеринарной практике антибиотиков. Известно, что со временем чувствительность микроорганизма к различным группам антибактериальных препаратов изменяется, и нередко весьма значительно. Мониторинг чувствительности может помочь в сдерживании распространения антибиотикорезистентности и оптимальном подборе препаратов для применения их в терапии.

Цель исследования. Анализ и систематизация представленных в научной литературе результатов исследований по изучению устойчивости *Escherichia coli* к антибактериальным препаратам.

Материалы и методы. Проведен поиск работ по заявленной теме в научных журналах и материалах научно-практических конференций.

Результаты. В статье представлены и обобщены литературные данные о тенденциях в резистентности *Escherichia coli* к антибактериальным препаратам.

Заключение. Устойчивость *Escherichia coli* чаще проявляется к β -лактамным антибактериальным препаратам, аминогликозидам, а также тетрациклинам, макролидам (эритромицину) и линкозамидам (линкомицину). Практически во всех исследованиях установлено, что выделенные изоляты *Escherichia coli* характеризуются полирезистентностью (устойчивостью к двум и более препаратам), а в некоторых случаях и мультирезистентностью (устойчивостью по крайней мере к одному препарату из трех и более групп). Результаты определения чувствительности во многих исследованиях значительно отличаются друг от друга, что связано с неодинаковыми условиями формирования антибиотикорезистентности у бактерий на разных животноводческих предприятиях. Для более точной оценки динамики распространения антибиотикорезистентности внутри вида *Escherichia coli* необходимо продолжать изучение чувствительности к антимикробным препаратам различных штаммов, выявляемых в животноводческих и птицеводческих хозяйствах, а также из объектов окружающей среды.

Ключевые слова: обзор, антибиотики, резистентность, *Escherichia coli*, колибактериоз

Для цитирования: Пименов Н. В., Маликова К. П. Дрейф генов антибиотикорезистентности патогенных энтеробактерий на примере *Escherichia coli*. Ветеринария сегодня. 2025; 14 (3): 255–262. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-255-262>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Маликова Ксения Павловна, студент, ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, ул. Мичурина, 1, г. Воронеж, 394087, Россия, malksenia2020@mail.ru

Drift of antibiotic resistance genes in pathogenic *Enterobacteriaceae*: a case study of *Escherichia coli*

Nikolai V. Pimenov¹, Ksenia P. Malikova²

¹ Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, 23 Academician Skryabin str., Moscow 109472, Russia

² Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, 1 Michurina str., Voronezh 394087, Russia

ABSTRACT

Introduction. The widespread antibiotic resistance among representatives of the *Escherichia coli* species is an acute problem for livestock and poultry farms, since this pathogen is the most frequently registered component of the etiological structure of gastrointestinal diseases in young farm animals and poultry, and is also often detected in diseases of other organs and systems. Even now, in many farms, the use of antibacterial drugs to treat diseases caused by this pathogen is difficult due to the circulation of strains with multiple resistance to most antibiotics used in veterinary practice. It is known that over time, the sensitivity of a microorganism to various groups of antibacterial drugs changes, often quite significantly. Sensitivity monitoring can help contain the spread of antibiotic resistance and optimally select drugs for use in therapy.

Objective. Analysis and systematization of the research results presented in the scientific literature on the resistance of *Escherichia coli* to antibacterial drugs.

Materials and methods. A search was conducted for scientific papers on this topic in scientific journals and materials of scientific and practical conferences.

Results. This article presents and summarizes literature data on trends in *Escherichia coli* resistance to antibacterial drugs.

© Пименов Н. В., Маликова К. П., 2025

Conclusion. *Escherichia coli* resistance is most often demonstrated to β -lactam antibacterial drugs, aminoglycosides, as well as tetracyclines, macrolides (erythromycin) and lincosamides (lincomycin). In almost all studies, *Escherichia coli* exhibits polyresistance (resistance to two or more drugs) and in some cases, multiresistance (resistance to at least one drug from three or more groups). The results of susceptibility determination in many studies differ significantly from each other, which is associated with different conditions for the formation of antibiotic resistance in bacteria on different livestock enterprises. For a more accurate assessment of the dynamics of the spread of antibiotic resistance within the *Escherichia coli* species, it is necessary to continue studying the sensitivity to antimicrobial drugs of various strains detected in livestock and poultry farms, as well as from environmental objects.

Keywords: review, antibiotics, resistance, *Escherichia coli*, colibacteriosis

For citation: Pimenov N. V., Malikova K. P. Drift of antibiotic resistance genes in pathogenic *Enterobacteriaceae*: a case study of *Escherichia coli*. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 255–262. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-255-262>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Ksenia P. Malikova, Student, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, 1 Michurina str., Voronezh 394087, Russia, malksenia2020@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Escherichia coli – возбудитель колибактериозов животных, являясь представителем условно-патогенной микрофлоры, играет значимую роль в патогенезе многих других заболеваний. Данный микроорганизм часто выделяют из патологического материала животных и человека, главным образом при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а также при акушерско-гинекологических патологиях, болезнях дыхательной системы и мочевыводящих путей. Биоварианты кишечной палочки, являющиеся причиной колибактериоза, разделяют на 7 патотипов, в том числе энтеротоксигенная (ETEC), энтеропатогенная (EPEC), энтерогеморрагическая (EHEC), шигатоксинпродуцирующая (STEC) и патогенная для птиц.

На сегодняшний день колибактериоз представляет серьезную проблему для животноводства и в особенности для промышленного птицеводства, поскольку относится к наиболее часто регистрируемым бактериальным инфекциям птиц (выявляется в 40–70% случаев). Значительному осложнению ситуации способствует широкое распространение у *E. coli* резистентности ко всем существующим группам антибактериальных средств, которая для некоторых препаратов достигает 100% [1, 2, 3].

Актуальность данной работы определяется экономическим ущербом, наносимым животноводству колибактериозной инфекцией, а также все возрастающим распространением у *E. coli* устойчивости к антимикробным препаратам. С течением времени чувствительность конкретного возбудителя к антибиотикам может значительно изменяться, и этот факт обуславливает необходимость постоянного мониторинга уровня устойчивости *E. coli* к различным антибактериальным препаратам.

В представленной работе обобщены имеющиеся в литературе данные научных исследований динамики устойчивости *E. coli*, изолированных от разных видов сельскохозяйственных животных, к антибактериальным препаратам.

Антибиотикорезистентность – это способность микроорганизмов противостоять действию антимикробных средств, в том числе антибиотиков. С момента доказательства клинической значимости этого явления, которая была установлена Александром Флемингом еще в 1945 г., человечество прошло несколько этапов

восприятия данной проблемы: период 1945–1963 гг., в течение которого полагали, что постоянное развитие фармацевтической промышленности опередит развитие устойчивости к антибиотикам; эпоха с 1963 по 1981 г. связана с открытием возможности передачи генов устойчивости через плазмиды и вследствие этого появлением обеспокоенности данным фактом; с 1981 по 1992 г. некоторые ученые стали рассматривать антибиотикорезистентность как глобальную проблему; в 1992–2013 гг. она стала привлекать все большее внимание специалистов, а также началось финансирование проектов, направленных на сдерживание распространения устойчивости; с 2013 г. по настоящее время проблема антибиотикорезистентности продолжает расти в связи с появлением у микроорганизмов все новых генов и механизмов защиты от антибиотиков и все большим распространением их среди популяций [4, 5].

В последнее время все большее значение в терапии бактериальных болезней приобретают альтернативные средства: бактериофаги, пробиотики, фитобиотики и антимикробные пептиды. Однако антибактериальные препараты все еще весьма широко применяются для лечения в животноводстве и птицеводстве. Кроме того, они используются в целях профилактики заболеваний и стимулирования продуктивности, что является причиной формирования и накопления у представителей рода *Escherichia* генетических детерминант резистентности к антибиотикам. Это, в свою очередь, приводит к распространению устойчивости и контаминации сырья и продукции [6, 7].

Целью настоящей работы было обобщение данных научной литературы о тенденциях в устойчивости *E. coli* к антибактериальным препаратам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили путем анализа и систематизации литературных данных, содержащих информацию об антибиотикорезистентности различных штаммов *E. coli*, выделенных из патологического и биологического материала домашних и сельскохозяйственных животных и птицы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2011 г. Н. Н. Шкиль представил результаты исследования 21 пробы патологического и биологического материала от абортированных и мертворожденных

плодов телят, 71 пробы – от телят профилактического периода, 67 проб – от телят в возрасте от 10 сут до 1 мес., 47 проб – от 1–3-месячных телят, 18 проб – от телят старше 3 мес. В 32% случаев была выделена патогенная микрофлора от животных, имеющих клинические признаки заболеваний желудочно-кишечного тракта, при этом респираторный синдром отмечали у 68% телят. Микроорганизмы рода *Escherichia* были обнаружены в 38% проб. Исследования по выявлению возбудителей проводили ежегодно в период с 2001 по 2010 г. Как установлено автором, в 2001 г. 50% выделенных представителей рода *Escherichia* проявляли высокую чувствительность к аминогликозидам. В последующие годы отмечено увеличение чувствительности к препаратам хинолонового/фторхинолонового ряда, которое достигло пика в 2006 г. (66%). К 2007 г. эти показатели сравнивались с аминогликозидами, а в 2009 и 2010 гг. чувствительность к препаратам аминогликозидного ряда была значительно выше (50%), чем к фторхинолонам (15%). Автор отмечает, что чаще всего рост чувствительности к одной группе препаратов соответствует ее падению к другой группе в этот же год. Кроме того, в изменчивости данного показателя прослеживается волнообразный характер: повышенная чувствительность, которая наблюдается на протяжении нескольких лет, затем сменяется понижением этого показателя в течение следующих лет [8]. Данная группа микроорганизмов, по-видимому, обладает высоко развитым механизмом формирования антибиотикорезистентности по отношению к препаратам группы фторхинолонов. Антисмысловая РНК, которая является продуктом положительной модуляции транскрипции, вызванной геном *micF*, осуществляет ингибирование синтеза пориновых белков на уровне трансляции, что положительно отражается на содержании в клетках сигма-фактора множественной стрессорной устойчивости σ^S . Этим обусловлены наиболее значительные колебания показателей резистентности у *E. coli* [9].

Горковенко Н. Е. и Макаров Ю. А. при изучении динамики изменения чувствительности к антимикробным препаратам штаммов *E. coli*, выделенных от больных телят, в 2006 г. у 6,5% изолятов выявили устойчивость к энрофлоксацину, к 2007 г. их доля увеличилась до 36,4%, а в 2010 г. достигла 90,0%. Число резистентных к полимиксину изолятов *E. coli* в 2006 г. составило 23,3%, а в 2010 г. – 75,0%, к неомицину в 2006 и 2010 гг. – 64,0 и 81,8% соответственно. Таким образом, наблюдается выраженное увеличение распространения устойчивости к энрофлоксацину, полимиксину и неомицину, что определяет значительное снижение терапевтической эффективности этих препаратов. Индифферентность к тетрациклину в 2006–2008 гг. составляла приблизительно 70%, в 2009 г. она снизилась до 60%, а в 2010 г. достигла 100%. Резистентность к левомицетину в 2006 и 2007 гг. была на уровне 60 и 55% соответственно; в 2008–2009 гг. выросла до 80%, а затем значительно снизилась. К стрептомицину и канамицину резистентность возрастала с 2006 по 2008 г., после чего в 2009 г. наблюдалось ее снижение, а в 2010 г. она достигла 100% для обоих препаратов.

Аналогично предыдущему исследованию приведенные данные указывают на волнообразность изменения устойчивости к антибактериальным препаратам, хотя в целом она продолжает возрастать, что в конечном итоге приводит к абсолютной резистентности и полной

потере терапевтической эффективности соответствующих лекарственных средств [10].

Результаты исследований, представленные Д. А. Желябовской и соавт. в 2017 г., позволяют сделать вывод о том, что 71,4% исследованных штаммов *E. coli* (O15, O18, O26), выделенных из кишечника новорожденных телят, обладают полирезистентностью. Данные культуры проявили устойчивость в отношении эритромицина (95,2%), тетрациклина и пенициллина (90,5%), канамицина (85,7%), ампициллина (76,2%), стрептомицина и гентамицина (71,4%) [11].

По результатам проведенного Н. М. Аль-Хаммашем и А. В. Игнатенко анализа антибиотикорезистентности штаммов *E. coli*, выделенных на молочно-товарной ферме, видно, что большее количество изолятов проявили устойчивость к бензилпенициллину (94%), эритромицину (94%), линкомицину (94%), тетрациклину (83%), ампициллину (61%), неомицину (56%), левомицетину (44%), пефлоксацину (37%), полимиксину (33%), цефалексину (28%). Промежуточной чувствительностью микроорганизмы обладали к неомицину (55%), полимиксину (50%), к фурадонину (27%), левомицетину (16%), канамицину (14%). Чувствительны они оказались к следующим антибактериальным препаратам: гентамицину (83%), канамицину (78%), цефалексину (74%), фурадонину (72%), пефлоксацину (62%), левомицетину (39%), неомицину (39%), ампициллину (33%). Изоляты проявили 100%-ю чувствительность лишь в отношении цефтриаксона, в то время как абсолютная устойчивость наблюдалась к олеандомицину, клиндамицину и оксациллину [12].

В исследовательской работе С. Н. Золотухина и соавт. к гентамицину чувствительность проявили 34,8% изолятов *E. coli*, устойчивость – 34,2%, умеренную устойчивость – 31,5%. Ампициллин проявил активность в отношении 57,8% изолятов *E. coli*, 27,3% оказались устойчивы к нему, а 14,4% проявили умеренную устойчивость. Наибольшая чувствительность выявлена к цефтриаксону (84,7%), ципрофлоксацину (74,2%) и левомицетину (60,6%). Результаты исследований показали, что ни один антибиотик не ингибирует рост микроорганизмов на 100%. Большинство штаммов полирезистентны к эритромицину, левомицетину, стрептомицину, тетрациклину, неомицину, ампициллину, гентамицину, пенициллину [13].

В период с 2016 по 2020 г. М. Е. Остякова и И. С. Шульга изучали особенности энтеробиоценоза новорожденных телят при массовых желудочно-кишечных заболеваниях. В процессе выполнения данной работы был проведен анализ резистентности штаммов *E. coli* к некоторым антибактериальным препаратам. Результаты исследования представлены следующим образом: изоляты проявляли резистентность к бензилпенициллину, офлоксацину, ципрофлоксацину и эритромицину. Это позволяет говорить о множественной антибиотикорезистентности выделенных штаммов. При этом 91,7% изолятов оказались чувствительны к полимиксину, 70,6% – к цефазолину, 65,5% – к стрептомицину, 62,5% – к амоксициллину в сочетании с клавулановой кислотой. Следовательно, данные антибиотики являются препаратами выбора при лечении кишечной инфекции, вызванной *E. coli* [14].

При идентификации патотипов и генов антибиотикорезистентности музейных штаммов диареогенных *E. coli* Ю. И. Поболеловой и С. П. Яценюк энтеропатогенная

кишечная палочка оказалась самым распространенным патотипом – частота его встречаемости составила 29% относительно остальных патотипов. Определение проводилось по фрагментам детерминант устойчивости микроорганизмов к β -лактамам антибиотикам (гены *blaTEM*, *blaSHV*), флорфениколу (*floR*), хлорамфениколу (*cat1*, *cmIA*), стрептомицину (ген *aadA1*), гентамицину (ген *aac3-IV*). Среди исследованных штаммов у 36% были идентифицированы гены резистентности хотя бы к одному из исследованных антибиотиков, а в 5 случаях была обнаружена устойчивость одновременно к двум антибиотикам: у 2 штаммов – к хлорамфениколу и стрептомицину, еще у 2 – к стрептомицину и флорфениколу и у 1 штамма – к хлорамфениколу и флорфениколу. В общей сложности гены устойчивости к хлорамфениколу *cat1* и *cmIA* были идентифицированы у 3 и 4 штаммов соответственно; ген устойчивости к стрептомицину *aadA1* выявлен у 17 штаммов, к флорфениколу *floR* – у 4 штаммов. Гены резистентности к гентамицину и β -лактамам обнаружены не были [15].

Исследователи А. А. Голикова и О. А. Манжури-на проводили эксперименты по определению чувствительности штаммов *E. coli*, выделенных от телят с колибактериозом, к 16 антибактериальным препаратам различных фармакологических групп. Авторами установлено наличие чувствительности штамма *E. coli* O20 по отношению к следующим антибиотикам: ампициллину, амоксициллину, тетрациклину, левомицетину, гентамицину, полимиксину, норфлоксацину, энрофлоксацину и стрептомицину. Штамм O33 проявил чувствительность к тем же препаратам, что и O22, за исключением резистентности к гентамицину и стрептомицину и чувствительности к фуразолидону и фурадонину. *E. coli* O137 показал восприимчивость к ампициллину, амоксициллину, тетрациклину, левомицетину, гентамицину, полимиксину, фуразолидону, фурадонину, норфлоксацину, энрофлоксацину и стрептомицину [16].

По данным, приведенным Е. А. Сазоновой, в 2020–2022 гг. у штаммов *E. coli* наблюдалась тенденция к развитию множественной лекарственной устойчивости к цефалоспорином I поколения, пенициллинам, тетрациклинам, макролидам, линкозамидам, сульфаниламидам, а также к стрептомицину. Резистентность к антибактериальным препаратам определялась для серовариантов O2, O78, O115, O126, O15, O18, O119, O33, O41, O101, O137, O157:H7, выделенных при колибактериозе свиней.

При этом резистентность эшерихий к различным антибактериальным препаратам изменялась следующим образом: к цефалексину в 2020 г. составляла 44,0%, в 2021 г. – 71,4%, в 2022 г. – 100,0%; к цефазолину в 2020 г. – 29,1%, в 2021 г. – 50,0%, в 2022 г. – 31,5%; к цефтриаксону – 6,9, 14,3, 15,3%; к амоксициллину – 73,7, 50,0, 48,7%; к ампициллину – 73,7, 78,7, 81,3%; к тетрациклину – 80,5, 57,1, 64,3%; к доксициклину – 84,5, 100,0, 99,1%; к стрептомицину – 30,9, 71,4, 72,5%; к эритромицину – 83,4, 100,0, 92,3%; к рифампицину – 85,7, 92,8, 91,3%; к норфлоксацину – 11,4, 7,1, 10,6%; к энрофлоксацину – 18,3, 7,4, 2,3%; к ципрофлоксацину – 10,3, 7,2, 11,3% в 2020, 2021 и 2022 г. соответственно. Из приведенных данных видно, что среди *E. coli* широко распространены резистентные к антибиотикам штаммы. При этом устойчивость к антибактериальным препаратам со временем лишь растет, в некоторых случаях (напри-

мер, к цефалексину, доксициклину, эритромицину) достигая 100% [17].

По результатам исследования антибиотикорезистентности штаммов *E. coli* K99:O141, F41:O26, F41, K88:O157, выделенных из патологического материала от телят и поросят с признаками заболеваний желудочно-кишечного тракта, А. С. Тищенко и соавт. сделали вывод, что данные изоляты проявляют резистентность к большинству антибиотиков, применяемых в ветеринарной практике: амоксиклаву, тетрациклину, гентамицину, оксациллину, азитромицину, цефтазидиму. Наибольшей антибактериальной активностью обладают препараты класса фторхинолонов (ципрофлоксацин и пефлоксацин), однако даже к ним наблюдается промежуточная устойчивость, что снижает ценность данных антибиотиков. Наименьшую активность проявили амоксиклав, оксациллин, гентамицин и азитромицин [18].

По данным И. Н. Ждановой и соавт., в хозяйствах Пермского края в 2020–2021 гг. от телят и взрослого поголовья крупного рогатого скота были выделены штаммы *E. coli* O8, O15, O20, O101, O115, O157. Среди этих штаммов обнаружили устойчивость к ампициллину и цефазолину (по 61,5%), а также высокую резистентность к цефтриаксону (23,1%), цефокситину (30,7%), хлорамфениколу (61,5%) и тетрациклину (79,5%). Наиболее чувствительны изолированные культуры оказались к имипенему и тобрамицину (100%), меропенему (97,4%), амикацину и моксифлоксацину (92,3%) [19].

В рамках работы С. А. Макавчик и А. А. Сухинина за период с 2021 по 2022 г. проводилось исследование микроорганизмов, выделенных из молока больных маститом коров. Культуры *E. coli* характеризовались чувствительностью к неомицину и карбапенемам (100%), а также резистентностью в отношении цефалексина (75%), тетрациклина (30%), цефотаксима (30%), гентамицина (14%) и ципрофлоксацина (7%). Полученные данные подтверждают тенденцию к стремительному увеличению резистентности к препаратам классов цефалоспоринов, тетрациклинов и аминогликозидов [20].

Как показали результаты исследований, проведенные А. С. Локтевой и соавт., штаммы *E. coli* O141 и O33, изолированные в 2017–2022 гг. из патологического материала трупов свиней, оказались панрезистентны. Полирезистентность патогенных культур наблюдалась более чем в 90% случаев, причем на таком высоком уровне она находилась в течение всего указанного периода времени [21].

Приведенные в статье И. М. Донник материалы демонстрируют, что большинство изолятов бактерий, выделенных из образцов цервикальных соскобов, секрета молочной железы, смывов носовой и ротовой полостей животных, образцов, взятых с контактных поверхностей и оборудования, а также навоза и кормов, обладали резистентными свойствами к действию антибактериальных препаратов. Эшерихии оказались устойчивы к рифампицину, полусинтетическим пенициллинам и тетрациклинам (64–67%), низкая чувствительность к 3–5 антибиотикам разных классов наблюдалась приблизительно у 44% изолятов, из них 28% – к цефалоспорином III поколения: цефтриаксону, цефотаксиму. Высокую чувствительность бактерии показали в отношении фторхинолонов: к ципрофлоксацину, энрофлоксацину, офлоксацину (82%) [22].

Кочкина Е. Е. и Морозова Н. В. изучали резистентность изолятов *E. coli*, выделенных от кошек при заболеваниях мочеполовой системы. В ходе исследования было установлено, что максимальное число изолятов ($71 \pm 10,7\%$) проявили чувствительность к цефалоспорином. К синтетическим пенициллинам умеренная резистентность составила $66 \pm 11,1\%$, к аминогликозидам – $83,3 \pm 8,8\%$. К последним двум классам препаратов наблюдалась также умеренная устойчивость, а к макролидам и фторхинолонам – резистентность. Чувствительность штаммов к отдельным антибиотикам представлена следующим образом: все изученные культуры чувствительны к цефепиму, $83,3 \pm 8,8\%$ культур – к цефтриаксону и цефазолину, также $83,3 \pm 8,8\%$ изолятов оказались умеренно резистентны в отношении цефотаксима, энрофлоксацина и гентамицина, а $66,7 \pm 11,1\%$ – амоксицикла, $50 \pm 11,8\%$ – ципрофлоксацина, по $16,7 \pm 8,8\%$ – в отношении цефтриаксона и цефазолина. Авторами сообщается о наличии абсолютной резистентности к тилозину [23].

При оценке антибиотикорезистентности перед применением антибактериальных препаратов Н. Н. Музыка и А. В. Белецкая выделили *E. coli* от различных видов птиц. Полученные изоляты проявили чувствительность к гентамицину ($19,0\%$), флорфениколу ($16,6\%$), энрофлоксацину ($14,3\%$), спектомицину ($14,3\%$), норфлоксацину ($7,1\%$), триметоприму ($4,7\%$), тилмикозину ($4,7\%$), доксициклину ($2,4\%$) и линкомицину ($2,4\%$). Умеренная чувствительность наблюдалась в отношении тилмикозина ($11,9\%$), доксициклина, флорфеникола, норфлоксацина и спектиномицина (по $4,7\%$), триметоприма, линкомицина и гентамицина (по $2,4\%$). Таким образом, общий процент чувствительности к антибактериальным препаратам не превышал 20% [24].

В 2023 г. А. С. Кривоноговой и соавт. была опубликована работа «Антибиотикорезистентность *Enterobacteriaceae* в микробиомах цыплят-бройлеров». В ходе данного исследования для стандартного штамма *E. coli* (ATCC 25922) была установлена минимальная подавляющая концентрация по отношению к таким препаратам, как ципрофлоксацин, меропенем, цефепим и ампициллин. Контрольные штаммы выращивали 37 сут, этот период времени соответствует сроку содержания бройлеров в условиях промышленных комплексов с момента вывода до убоя. В результате исследования стало известно, что к штамму ATCC 25922 *E. coli* антибактериальную активность проявляет ципрофлоксацин в минимальной подавляющей концентрации $0,06\text{--}0,12$ мг/л, меропенем ($0,12$ мг/л), ампициллин ($2\text{--}4$ мг/л), а также цефепим ($0,5$ мг/л). В данных условиях антибиотикорезистентность не наблюдалась, поскольку использованные в опыте эшерихии не имели в геноме активных детерминант резистентности, а ввиду отсутствия контактов с другими микроорганизмами горизонтальный перенос генов не происходил.

Также в рамках исследования было проведено изучение чувствительности к антибактериальным препаратам микрофлоры, изолированной из смывов с клоаки цыплят и подстилки на разных этапах выращивания птицы. В данном случае выявлена чувствительность всех изолятов *E. coli* к ампициллину и ципрофлоксацину в минимальной подавляющей концентрации $2,0\text{--}4,0$ и $0,06\text{--}0,12$ мг/л соответственно. Меропенем проявил активность в минимальной подавляющей концентрации $0,06$ мг/л в отношении 74% изолятов, а в минимальной подавляющей концентрации $0,12$ мг/л к нему

оказались восприимчивы все изоляты. К цефепиму в минимальной подавляющей концентрации $0,125$ мг/л были резистентны 50% изолятов, тогда как к минимальной подавляющей концентрации $0,5$ мг/л восприимчивы оказались 100% изолятов [25].

Как видно из результатов, недостаточная концентрация действующего вещества антибиотиков активных групп приводит к сохранению возбудителя и развитию лекарственной устойчивости с вертикальным переносом генома. Данные исследования показали, что и к карбапенемам развивается антибиотикорезистентность, что определяет критический статус потенциальных возможностей терапии и метапрофилактики заболевания, вызванного патогенными серотипами *E. coli*.

Группой авторов проводилось изучение антибиотикочувствительности патогенных культур кишечной палочки, циркулирующих на промышленной птицефабрике в Омской области. Из проб патологического материала, полученного от кур и цыплят разных возрастов, в течение 2018 г. были изолированы сероварианты O37, O115 и O2 *E. coli*. У данной микрофлоры установлена 100% -я чувствительность к препаратам группы фторхинолонов в составе комплексных препаратов «Трифлон» и «Энрофлон К». В то же время штаммы проявили абсолютную резистентность к тетрациклину, а также большинство штаммов оказались устойчивы в отношении тилозина, гентамицина, доксициклина и левомицетина [26].

Исакова М. Н. и соавт. изучали 127 изолятов *E. coli*, выделенных из секрета молочной железы и цервикальных смывов, отобранных от крупного рогатого скота. Исследование выявило широкое распространение изолятов, обладающих фенотипической устойчивостью к рифампицину, полусинтетическим пенициллинам и тетрациклином. К азитромицину, левомицетину и тобрамицину культуры продемонстрировали меньший уровень резистентности. У $28,46\%$ изолятов была выявлена промежуточная резистентность к цефалоспорином III поколения и у $49,02\%$ – ген устойчивости к данной группе препаратов (*blaDHA*) [27].

В 2023 г. М. С. Алексюк и соавт. проводили мониторинг антибиотикорезистентности *E. coli* на территории Республики Казахстан. На протяжении 3 мес. в Алматинской области на частных фермах производили сбор образцов фекалий от телят с признаками эшерихиоза. Из биологического материала было выделено 30 изолятов *E. coli*, из которых 6 предположительно относились к O157:H7. Согласно результатам исследования, ко всем группам антибактериальных препаратов оказались чувствительны только 4 изолята, 7 изолятов продемонстрировали резистентность к одному антибиотику, большинство же обладали множественной лекарственной устойчивостью (нечувствительны к трем и более группам). К 7 группам препаратов проявили резистентность 5 изолятов, а один из изолятов оказался устойчив ко всем 8 классам антибиотиков. Больше всего изолятов продемонстрировали устойчивость к ампициллину, тетрациклину, гентамицину, флорфениколу и триметоприму. Чуть реже встречалась резистентность к энрофлоксацину и амоксициллину в сочетании с клавулановой кислотой. Почти все изоляты оказались чувствительны к колистину. Промежуточную устойчивость некоторые штаммы продемонстрировали в отношении гентамицина и комбинации амоксициллина с клавулановой кислотой [28].

В исследовании М. Ю. Сыромятникова и соавт. был проведен анализ генов антибиотикорезистентности *E. coli*, выделенной из кишечника 2–5-суточных поросят с диареей. С помощью биоинформатического анализа было идентифицировано 26 генов антибиотикорезистентности, среди них детерминирующие устойчивость к аминогликозидам: *Aac6-Aph2*, *Aac6-Ilf*, *StrA*, *StrB*; к β -лактамам антибиотикам: *AmpC1_Ecoli*, *OXA-10*, *OXA-14*, *OXA-16*, *Penicillin_Binding_Protein_Ecoli*, *TEM-143*, *TEM-166*, *TEM-215*, *TEM-76*, *TEM-95*; к хинолонам: *QnrB19*, *QnrB5*, *QnrD*, *QnrVC4*; к сульфаниламидам: *SulI*; к тетрациклинам: *TetD*; к триметоприму: *DfrA1*, *DfrA14*, *DfrA27*; к фениколам: *CmlA5*, *CmlA1*; *FloR*. Среди 4 детектированных разновидностей генов резистентности к хинолонам доминирующим оказался *QnrD* – почти 60% относительно остальных генов данной выборки. Штаммы *E. coli*, в которых содержится плазмида с этим геном, вероятно, обладают устойчивостью к большинству используемых в ветеринарии антибиотиков. Среди 10 идентифицированных генов резистентности к β -лактамам наибольшей обильностью характеризовался *Penicillin_Binding_Protein_Ecoli* (24%). Распространенность *OXA-16* составляла 9%, *AmpC1_Ecoli* – 15%, *OXA-10* – 12%, *OXA-14* – 11%. Встречаемость генов *TEM-143*, *TEM-166*, *TEM-76* и *TEM-95* в сумме была 6% и только 1% прочтений приходился на *TEM-215*. Среди генов устойчивости к фениколам наибольшей частотой встречаемости обладали *CmlA5* (52%) и *CmlA1* (44%). Самой распространенной детерминантой устойчивости к триметоприму оказался ген *DfrA14* (64%). Среди генов, ассоциированных с аминогликозидами, наиболее распространенными были *StrA* (35%) и *StrB* (31%). Гены устойчивости к тетрациклинам и сульфаниламидам вместе составили 3% относительной обильности. Для остальных последовательностей процентное соотношение каждой отдельной группы не превышало 10%, а относительное содержание генов устойчивости по отношению к тетрациклинам, аминогликозидам и сульфаниламидам было менее 1% [29].

Таким образом, высокопроизводительное секвенирование показало, что наиболее распространенным оказался ген *QnrD*, детерминирующий устойчивость к хинолонам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из представленных выше литературных данных видно, что резистентность *E. coli* чаще проявляется к β -лактамам антибактериальным препаратам (особенно к бензилпенициллину, пенициллину и цефалексину), аминогликозидам (в основном к стрептомицину, гентамицину), а также тетрациклинам, макролидам (эритромицину) и линкозамидам (линкомицину). Практически во всех исследованиях *E. coli* проявляет полирезистентность, то есть устойчивость к двум и более препаратам, а в некоторых случаях и мультирезистентность (устойчивость по крайней мере к одному препарату из трех и более групп).

Тем не менее результаты антибиотикограммы значительно разнятся от исследования к исследованию. Это объясняется распространением в микробиоценозе каждого отдельного животноводческого хозяйства определенных механизмов антибиотикорезистентности. Набор этих механизмов является индивидуальным для популяций *E. coli* на каждом предприятии и опре-

деляется серовариантами микроорганизма, ассортиментом используемых антибактериальных препаратов и режимом их применения, наличием детерминант устойчивости в объектах окружающей среды, качеством проводимой дезинфекции (поскольку субингибирующие концентрации дезинфицирующих средств оказывают на микроорганизмы агрессивное воздействие и запускают процессы адаптации). Эти факторы обуславливают формирование определенного набора генов антибиотикорезистентности, циркулирующих среди микроорганизмов данного хозяйства, развитие у них фенотипической устойчивости (образование биопленок и явление персистенции), а также адаптивной резистентности (временного повышения выживаемости в условиях воздействия лекарственных веществ). В этом заключается одна из ведущих проблем терапии заболеваний, вызванных данным микроорганизмом, поскольку все труднее становится сделать оптимальный выбор антибактериального препарата.

Таким образом, обобщение имеющихся в литературе сведений позволило охарактеризовать наиболее явные тенденции устойчивости *E. coli* к антибактериальным препаратам, а также подтвердило, что антибиотикорезистентность является неуклонно растущей проблемой животноводства. В связи с этим необходим постоянный мониторинг динамики чувствительности микроорганизмов как внутри каждого отдельного предприятия, так и в объектах окружающей среды, прилегающих к местам содержания сельскохозяйственных животных. Отслеживание тенденций в антибиотикочувствительности позволит актуализировать рекомендации по антибактериальной терапии заболеваний животных, вызываемых видом *E. coli*. Кроме того, важно продолжать поиск, разработку и внедрение в практику альтернативных методов терапии инфекционных заболеваний, исключающих применение антибактериальных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Robins-Browne R. M., Holt K. E., Ingle D. J., Hocking D. M., Yang J., Tauschek M. Are *Escherichia coli* pathotypes still relevant in the era of whole-genome sequencing? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016; 6:141. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00141>
2. Панин А. Н., Комаров А. А., Куликовский А. В., Макаров Д. А. Проблема резистентности к антибиотикам возбудителей болезней, общих для человека и животных. *Ветеринария, зоотехника и биотехнология*. 2017; (5): 18–24. <https://elibrary.ru/ytvinj>
3. Бабкова Е. А., Юнешева Н. В. Терапия цыплят-бройлеров при колибактериозе в современном промышленном птицеводстве. *Ветеринария*. 2017; (9): 23–25. <https://elibrary.ru/zmmivb>
4. Podolsky S. H. The evolving response to antibiotic resistance (1945–2018). *Palgrave Communications*. 2018; (4):124. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0181-x>
5. Захарова О. И., Лискова Е. А., Михалева Т. В., Блохин А. А. Антибиотикорезистентность: эволюционные предпосылки, механизмы, последствия. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2018; (3): 13–21. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2018.64.3.13-21>
6. Солодовникова А. С., Сибен А. Н. Резистентности бактерий к антибиотикам в животноводстве. *Интеграция науки и образования в аграрных вузах для обеспечения продовольственной безопасности России: сборник трудов национальной научно-практической конференции (Тюмень, 1–3 ноября 2022 г.)*. Тюмень: ФГБОУ ВО ГАС Северного Зауралья; 2022; 173–177. <https://elibrary.ru/vhlmqq>
7. Герасимова А. О., Новикова О. Б., Савичева А. А. Колибактериоз птиц – актуальные вопросы. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (4): 284–292. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-284-292>
8. Шкиль Н. Н. Динамика изменения антибиотикочувствительности у возбудителей заболеваний молодняка крупного рогатого скота. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2011; (8). <http://ej.kubagro.ru/2011/08/pdf/42.pdf>

9. Ткаченко А. Г., Пожидаева О. Н., Шумков М. С. Роль полиаминов в формировании множественной антибиотикостойчивости *Escherichia coli* в условиях стрессорных воздействий. *Биохимия*. 2006; 71 (9): 1287–1296. <https://biochemistry.moscow.com/ru/archive/2006/71-09-1287>
10. Горковенко Н. Е., Макаров Ю. А. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2018; (3). <https://doi.org/10.21515/1990-4665-137-032>
11. Желябовская Д. А., Остякова М. Е., Почтарь В. А., Лаврушина Л. А., Коноплев В. А., Горбачева И. Е. Антибиотикочувствительность и антибиотикорезистентность патогенных и условно-патогенных энтеробактерий, выделенных из кишечника новорожденных телят. *Вестник КрасГАУ*. 2017; (11): 27–33. <https://elibrary.ru/zxfkqp>
12. Аль-Хаммаш Н. М., Игнатенко А. В. Анализ антибиотикорезистентности микроорганизмов *E. coli*. *Труды БГУ*. 2012; (4): 173–175. <https://elibrary.ru/snmksx>
13. Золотухин С. Н., Мелехин А. С., Пименов Н. В. Чувствительность условно-патогенных энтеробактерий к антибиотикам и производственным штаммам бактериофагов. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2016; (2): 87–91. <https://elibrary.ru/wezysv>
14. Остякова М. Е., Шульга И. С. Особенности энтеробиоценоза новорожденных телят при массовых желудочно-кишечных заболеваниях. *Вестник ДВО РАН*. 2022; (2): 121–130. https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_222_02_11
15. Поболелова Ю. И., Яцентюк С. П. Идентификация патотипов и генов антибиотикорезистентности музейных штаммов диареегенных *E. coli*. *Труды ВИЭВ*. 2018; 80 (1): 284–290. <https://elibrary.ru/yqpalj>
16. Голикова А. А., Манжурина О. А. Изучение чувствительности возбудителя колибактериоза телят к антибактериальным препаратам различных фармакологических групп. *Инновационные технологии и технические средства для АПК: материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов (Воронеж, 12–13 ноября 2020 г.)*. Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ; 2020; 65–68. <https://elibrary.ru/dviihik>
17. Сазонова Е. А. Эпизоотологические аспекты, профилактика и эффективность противомикробных препаратов при колибактериозе свиней. *Ветеринария Северного Кавказа*. 2023; (8): 149–154. <https://elibrary.ru/frbpbsh>
18. Тищенко А. С., Коцаев А. Г., Яковенко П. П., Волостнова А. А., Терехов В. И. Проблемы антибиотикотерапии энтеротоксигенного эшерихиоза телят и поросят и пути их решения. *Ветеринария Кубани*. 2022; (3): 8–11. <https://elibrary.ru/cwlqdc>
19. Жданова И. Н., Мокрушин В. В., Кузнецова М. В. Колибактериоз крупного рогатого скота в Пермском крае: распространенность, источники возбудителя и его биологические особенности. *Сельскохозяйственная биология*. 2022; 57 (4): 776–790. <https://doi.org/10.15389/agrobiologia.2022.4.776rus>
20. Макавич С. А., Сухинин А. А. Ветеринарный мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий как инструмент обеспечения инфекционной безопасности. *Микробиология военной медицины и здравоохранению. Современные технологии: наука, практика, инновации: материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания кафедры микробиологии Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова (Санкт-Петербург, 11–12 мая 2023 г.)*. СПб.: ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова»; 2023; 94–96. <https://elibrary.ru/ndojsy>
21. Локтева А. С., Плешакова В. И., Лоренгель Т. И. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий, выделенных от продуктивных животных Омской области. *Прикаспийский международный молодежный научный форум агропротехнологий и продовольственной безопасности 2023: материалы (Астрахань, 27–28 апреля 2023 г.)*. Астрахань: Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева; 2023; 69–72. <https://elibrary.ru/fyaaaid>
22. Донник И. Антибиотикорезистентность: актуальность возрастает. *Животноводство России*. 2022; (4): 27–28. <https://doi.org/10.25701/ZZR.2022.04.04.010>
23. Кочкина Е. Е., Морозова Н. В. Антибиотикорезистентность штаммов *Escherichia coli*, выделенных при заболеваниях мочевыделительной системы у кошек. *Молодежная наука – развитию агропротехнологического комплекса: материалы III Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых (Курск, 15 ноября 2022 г.)*. Ч. 1. Курск: ФГБОУ ВО Курская ГСХА; 2023; 381–386. <https://elibrary.ru/irfinl>
24. Музыка Н. Н., Белецкая А. В. Оценка антибиотикорезистентности перед применением антимикробных препаратов у птицы. *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства*. 2020; 23 (2): 183–189. <https://elibrary.ru/zuwsdo>
25. Кривоногова А. С., Донник И. М., Исаева А. Г., Логинов Е. А., Петропавловский М. В., Беспмятных Е. Н. Антибиотикорезистентность *Enterobacteriaceae* в микробиомах цыплят-бройлеров. *Техника и технология пищевых производств*. 2023; 53 (4): 710–717. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2472>
26. Лоренгель Т. И., Лещёва Н. А., Осташенко А. Р., Плешакова В. И. Антибиотикочувствительность патогенных культур кишечной палочки, циркулирующих на промышленной птицефабрике Омской области. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2019; (4): 122–127. <https://elibrary.ru/jatbfq>
27. Исакова М. Н., Соколова О. В., Безбородова Н. А., Кривоногова А. С., Исаева А. Г., Зубарева В. Д. Антибиотикорезистентность клинических изолятов *Escherichia coli*, выделенных от животных. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (1): 14–19. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-1-14-19>
28. Алексюк М. С., Манакбаева А. Н., Молдаханов Е. С., Аканова К. С., Имангазы А. С., Алексюк П. Г., Богоявленский А. П. Распространение антибиотикостойчивости у штаммов *Escherichia coli*, изолированных от телят с признаками колибактериоза. *Наука и образование*. 2024; (2-1): 126–140. <https://elibrary.ru/igrpib>
29. Сыромятников М. Ю., Шабунин С. В., Нестерова Е. Ю., Гладких М. И., Буракова И. Ю., Смирнова Ю. Д. и др. Анализ генов антибиотикорезистентности *Escherichia coli* из кишечника поросят с диареей. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2024; 60 (2): 95–100. <https://doi.org/10.52368/2078-0109-2024-60-2-95-100>

REFERENCES

1. Robins-Browne R. M., Holt K. E., Ingle D. J., Hocking D. M., Yang J., Tauschek M. Are *Escherichia coli* pathotypes still relevant in the era of whole-genome sequencing? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016; 6:141. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00141>
2. Panin A. N., Komarov A. A., Kulikovskiy A. V., Makarov D. A. Problem of antimicrobial resistance of zoonotic bacteria. *Veterinariya, Zootekhniya i Biotekhniologiya*. 2017; (5): 18–24. <https://elibrary.ru/yvtvjin> (in Russ.)
3. Babkova E. A., Yunyaeva N. V. Therapy of colibacteriosis in broiler chickens in modern industrial poultry farming. *Veterinariya*. 2017; (9): 23–25. <https://elibrary.ru/zmmivb> (in Russ.)
4. Podolsky S. H. The evolving response to antibiotic resistance (1945–2018). *Palgrave Communications*. 2018; (4):124. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0181-x>
5. Zakharova O. I., Liskova E. A., Mikhaleva T. V., Blokhin A. A. Antibiotic resistance: evolutionary prerequisites, mechanisms, consequences. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2018; (3): 13–21. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2018.64.3.13-21> (in Russ.)
6. Solodovnikova A. S., Siben A. N. Bacterial resistance to antibiotics in animal husbandry. *Integratsiya nauki i obrazovaniya v agrarnykh vuzakh dlya obespecheniya prodovol'stvennoi bezopasnosti Rossii: sbornik trudov natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Tyumen', 1–3 noyabrya 2022 g.) = Integration of science and education in the agricultural higher education institutions to ensure food security in Russia: proceedings of the National Scientific and Practical Conference (Tyumen, 1–3 November 2022)*. Tyumen: Northern Trans-Ural State Agricultural University; 2022; 173–177. <https://www.elibrary.ru/vhlmqq> (in Russ.)
7. Gerasimova A. O., Novikova O. B., Savicheva A. A. Avian colibacillosis – current aspects. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (4): 284–292. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-284-292>
8. Shkil N. N. Dynamic changes of antibiotic sensitive agents of diseases of calves. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*. 2011; (8). <http://ej.kubagro.ru/2011/08/pdf/42.pdf> (in Russ.)
9. Tkachenko A. G., Pozhidaeva O. N., Shumkov M. S. Role of polyamines in formation of multiple antibiotic resistance of *Escherichia coli* under stress conditions. *Biochemistry (Moscow)*. 2006; 71 (9): 1042–1049. <https://doi.org/10.1134/S0006297906090148>
10. Gorkovenko N. E., Makarov Yu. A. Monitoring of antibiotic resistance of *Enterobacteria*. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*. 2018; (3). <https://doi.org/10.21515/1990-4665-137-032> (in Russ.)
11. Zhelyabovskaya D. A., Ostyakova M. E., Pochtar V. A., Lavrushina L. A., Konoplyov V. A., Gorbachyova I. E. Antibiotic sensitivity and antibiotic resistance of pathogenic and conditionally pathogenic *Enterobacteria* allocated from the intestines of newborn calves. *Bulletin of KrasSAU*. 2017; (11): 27–33. <https://elibrary.ru/zxfkqp> (in Russ.)
12. Al-Hammash N. M., Ignatenko A. V. Analysis of antibiotic resistance of *E. coli* microorganisms. *Proceedings of BSTU*. 2012; (4): 173–175. <https://elibrary.ru/snmksx> (in Russ.)
13. Zolotukhin S. N., Melekhin A. S., Pimenov N. V. Sensitivity of potentially pathogenic *Enterobacteria* to antibiotics and master seed strains of bacteriophages. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2016; (2): 87–91. <https://elibrary.ru/wezysv> (in Russ.)

14. Ostyakova M. E., Shul'ga I. S. Peculiarities of enterobiosenosis of newborn calves in the case of mass gastrointestinal diseases. *Vestnik of the FEB RAS*. 2022; (2): 121–130. https://doi.org/10.37102/0869-7698_2022_22_02_11 (in Russ.)
15. Pobolelova Yu. I., Yatsentyuk S. P. Identification of patotypes and antibiotic resistance genes of museum strains of diarrheagenic *E. coli*. *Trudi VIEV*. 2018; 80 (1): 284–290. <https://elibrary.ru/yqpajl> (in Russ.)
16. Golikova A. A., Manzhurina O. A. Izuchenie chuvstvitel'nosti возбуdivatelya kolibakterioza telyat k antibakterial'nym preparatam razlichnykh farmakologicheskikh grupp = Study of colibacillosis pathogen susceptibility to antibacterial drugs of different pharmacological classes. *Innovatsionnye tekhnologii i tekhnicheskie sredstva dlya APK: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov (Voronezh, 12–13 noyabrya 2020 g.) = Innovative technologies and technical means for agricultural industry: proceedings of International Scientific and Practical Conference for Young Career Scientists and Specialists (Voronezh, 12–13 November 2020)*. Voronezh: Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great; 2020; 65–68. <https://elibrary.ru/dviihk> (in Russ.)
17. Sazonova E. A. Epizootological aspects, prevention and effectiveness of antimicrobial drugs for colibacillosis in pigs. *Veterinariya Severnogo Kavkaza*. 2023; (8): 149–154. <https://elibrary.ru/frbpsh> (in Russ.)
18. Tishchenko A. S., Koshchayev A. G., Yakovenko P. P., Volostnova A. A., Terekhov V. I. Problems of antibiotic therapy of enterotoxigenic escherichiosis of calves and piglets and the ways of their solution. *Veterinariya Kubani*. 2022; (3): 8–11. <https://elibrary.ru/cwlgdc> (in Russ.)
19. Zhdanova I. N., Mokrushin V. V., Kuznetsova M. V. Cattle colibacillosis in Perm krai: prevalence, sources of the causative agent and its biological characterization. *Agricultural Biology*. 2022; 57 (4): 776–790. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.4.776eng>
20. Makavchik S. A., Sukhinin A. A. Veterinary monitoring of antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* as a tool to ensure infection safety. *Mikrobiologiya voennoi meditsiny i zdoravookhraneniya. Sovremennye tekhnologii: nauka, praktika, innovatsii: materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu so dnya osnovaniya kafedry mikrobiologii Voenno-meditsinskoi akademii imeni S. M. Kirova (Sankt-Peterburg, 11–12 maya 2023 g.) = Microbiology for military medicine and public health. Modern technologies: science, practice, innovations: proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference devoted to 100th Anniversary of Microbiology Chair establishment in the Military medical academy named after S. M. Kirov (Saint Petersburg, 11–12 May, 2023)*. Saint Petersburg: Kirov Military Medical Academy; 2023; 94–96. <https://elibrary.ru/ndojy> (in Russ.)
21. Lokteva A. S., Pleshakova V. I., Lorengel T. I. Monitoring of antibiotic resistance of *Enterobacteria* isolated from productive animals in the Omsk region. *Prikaspiiskii mezhdunarodnyi molodezhnyi nauchnyi forum agropromtekhologii i prodovol'stvennoi bezopasnosti 2023: materialy (Astrakhan', 27–28 aprelya 2023 g.) = Caspian International Youth Scientific Forum of Agricultural Technologies and Food Security 2023: proceedings (Astrakhan, 27–28 April, 2023)*. Astrakhan: Astrakhan State University; 2023; 69–72. <https://elibrary.ru/fyaaaid> (in Russ.)
22. Donnik I. Antibiotic resistance: becoming more relevant. *Animal Husbandry of Russia*. 2022; (4): 27–28. <https://doi.org/10.25701/ZZR.2022.04.04.010> (in Russ.)
23. Kochkina E. E., Morozova N. V. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated in diseases of the urinary system in cats. *Molodezhnaya nauka – razvitiyu agropromyshlennogo kompleksa: materialy III Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov, aspirantov i molodykh uchenykh (Kursk, 15 noyabrya 2022 g.) = Youth Science for the Development of Agricultural Industry: proceedings of III International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduate Students and Young Career Scientists (Kursk, 15 November 2022)*. Pt. 1. Kursk: Kursk State Agricultural I. I. Ivanov Academy; 2023; 381–386. <https://elibrary.ru/irfinl> (in Russ.)
24. Muzyka N. N., Beletskaya A. V. Otsenka antibiotikorezistentnosti pered primeneniem antimikrobnikh preparatov u ptitsy = Assessment of antimicrobial resistance before use of antimicrobials in poultry. *Aktual'nye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva*. 2020; 23 (2): 183–189. <https://elibrary.ru/zuwsdo> (in Russ.)
25. Krivonogova A. S., Donnik I. M., Isaeva A. G., Loginov E. A., Petropavlovskiy M. V., Beshpamyatnykh E. N. Antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* in microbiomes associated with poultry farming. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023; 53 (4): 710–717. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2472> (in Russ.)
26. Lorengel T. I., Leshcheva N. A., Ostashenko A. R., Pleshakova V. I. Antibiotic susceptibility of pathogenic cultures of *Escherichia coli* circulating in a commercial poultry plant in the Omsk Region. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2019; (4): 122–127. <https://elibrary.ru/jatbfq> (in Russ.)
27. Isakova M. N., Sokolova O. V., Bezborodova N. A., Krivonogova A. S., Isaeva A. G., Zubareva V. D. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates obtained from animals. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (1): 14–19. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-1-14-19>
28. Alexyuk M. S., Manakbayeva A. N., Moldakhanov Y. S., Akanova K. S., Imangazy A. S., Alexyuk P. G., Bogoyavlenskiy A. P. Spread of antibiotic resistance among *Escherichia coli* strains isolated from calves with signs of colibacillosis. *Science and Education*. 2024; (2-1): 126–140. <https://elibrary.ru/igrpiib> (in Russ.)
29. Syromyatnikov M. Yu., Shabunin S. V., Nesterova E. Yu., Gladikh M. I., Burakova I. Yu., Smirnova Yu. D., et al. Analysis of antibiotic resistance genes of *Escherichia coli* from the gut of piglets with diarrhea. *Transactions of the Educational Establishment "Vitebsk the Order of "the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine"*. 2024; 60 (2): 95–100. <https://doi.org/10.52368/2078-0109-2024-60-2-95-100> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 14.03.2025

Поступила после рецензирования / Revised 15.06.2025

Принята к публикации / Accepted 02.07.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Пименов Николай Васильевич, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. А. Скрябина, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1658-1949>, pimenov-nikolai@yandex.ru

Маликова Ксения Павловна, студент ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, г. Воронеж, Россия; <https://orcid.org/0009-0008-5540-7373>, malksenia2020@mail.ru

Nikolai V. Pimenov, Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of Department of Immunology and Biotechnology, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, Moscow, Russia;

<https://orcid.org/0000-0003-1658-1949>, pimenov-nikolai@yandex.ru

Ksenia P. Malikova, Student, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia;

<https://orcid.org/0009-0008-5540-7373>, malksenia2020@mail.ru

Вклад авторов: Пименов Н. В. – формирование идеи, формулировка ключевых целей и задач, критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценных замечаний, утверждение окончательного варианта работы; Маликова К. П. – проведение исследования, сбор и анализ данных, подготовка и редактирование текста работы.

Contribution of the authors: Pimenov N. V. – conceptualization, formulation of key objectives and research goals, critical revision of the manuscript draft with valuable feedback, approval of the final version of the work; Malikova K. P. – conducting research, data collection, and analysis preparation and writing of the manuscript; text revision and editing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-263-273>
УДК 619:576.54:616-002

Роль пуриnergической сигнализации и цитокиновой сети в воспалительном процессе

В. В. Мосягин¹, Е. А. Исакова^{1, 2}, Г. Ф. Рыжкова², И. П. Мосягина²

¹ ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр» (ФГБНУ «Курский ФАНЦ»), ул. Карла Маркса, 70б, г. Курск, 305021, Россия

² ФГБОУ ВО «Курский государственный аграрный университет имени И. И. Иванова» (Курский ГАУ), ул. Карла Маркса, 70, г. Курск, 305021, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Воспаление представляет собой сложный биологический процесс, направленный на защиту организма от патогенов и восстановление поврежденных тканей. Этот процесс регулируется множеством сигнальных молекул, среди которых важное значение имеют пурины и цитокины. Пуриnergическая сигнализация, опосредованная аденозинтрифосфатом, аденозинмонофосфатом и другими нуклеотидами, играет ключевую роль в регуляции иммунных реакций и воспалительных процессов. Цитокиновая сеть, включающая интерлейкины, фактор некроза опухоли α и другие молекулы, также является важным компонентом воспаления, обеспечивая коммуникацию между клетками иммунной системы и регулируя их активность. Понимание механизмов взаимодействия между пуриnergической сигнализацией и цитокиновой сетью имеет важное значение для разработки новых стратегий лечения воспалительных заболеваний.

Цель исследования. Обобщение результатов исследований по значению роли пуриnergической сигнализации и цитокиновой сети в воспалительном процессе у животных.

Материалы и методы. Проведен анализ 55 научных публикаций российских и иностранных авторов за период с 2000 по 2021 г., исследующих влияние нуклеотидов, нуклеозидов и пуриnergических рецепторов на формирование иммунного ответа, а также механизмы активации макрофагов и выделения цитокинов. Для поиска источников использовались базы данных eLIBRARY.RU, CyberLeninka, PubMed, NCBI, ResearchGate, CABI и Google Scholar.

Результаты. Рассмотрены механизмы воспалительного ответа, включая роль различных клеток и молекул, таких как цитокины и рецепторы, в регуляции иммунной реакции. Последние имеют важное значение в активации клеток иммунной системы и регуляции воспалительных реакций. Обсуждается процесс дефосфорилирования аденозинтрифосфата с участием ферментов CD39 и CD73, что способствует образованию аденозина и активации противовоспалительных механизмов. Проанализированы функции провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1, фактор некроза опухоли α и интерлейкин-6, в контексте активации макрофагов и миграции нейтрофилов к месту воспаления. Подчеркивается важность регуляции этих процессов для предотвращения чрезмерного воспалительного ответа и обеспечения гомеостаза. Рассмотрены механизмы перехода между фазами воспаления, включающие роль противовоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-10 и трансформирующий фактор роста β , в контроле активности нейтрофилов и разрешении воспалительного процесса.

Заключение. Дальнейшее изучение данной темы способно углубить современные знания ученых о механизмах возникновения воспаления и создать основу для разработки инновационных терапевтических стратегий, направленных на лечение болезней, обусловленных нарушениями иммунной системы.

Ключевые слова: обзор, нуклеотиды, рецепторы, пуриnergическая регуляция, CD39, CD73, АТФ, АДФ, АМФ, аденозин, макрофаги, цитокины, интерлейкины

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания ФГБНУ «Курский ФАНЦ» (тема FGZU-2022-0004). Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку работы.

Для цитирования: Мосягин В. В., Исакова Е. А., Рыжкова Г. Ф., Мосягина И. П. Роль пуриnergической сигнализации и цитокиновой сети в воспалительном процессе. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 263–273. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-263-273>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мосягин Владимир Владимирович, д-р биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБНУ «Курский ФАНЦ», ул. Карла Маркса, 70б, г. Курск, 305021, ugnoe_nebo@list.ru

The role of purinergic signaling and cytokine network in the inflammatory process

Vladimir V. Mosyagin¹, Elizaveta A. Isakova^{1, 2}, Galina F. Ryzhkova², Irina P. Mosyagina²

¹ Federal Agricultural Kursk Research Center, 70b Karl Marx str., Kursk 305021, Russia

² Kursk State Agrarian University named after I. I. Ivanov, 70 Karl Marx str., Kursk 305021, Russia

ABSTRACT

Introduction. Inflammation is a complex biological process essential for host defense against pathogens and tissue repair. This process is regulated by a variety of signaling molecules, among which purines and cytokines play an important role. Purinergic signaling mediated by adenosine triphosphate, adenosine monophosphate, and other nucleotides plays a key role in regulating immune responses and inflammatory processes. The cytokine network, including interleukins, tumor necrosis factor α and other molecules, is also an important component of inflammation, providing communication between cells of the immune system and

regulating their activity. Understanding the purinergic signaling and the cytokine network interaction mechanisms is crucial for developing innovative treatments for inflammatory diseases.

Objective. To synthesize current research findings on the role of purinergic signaling and the cytokine network in inflammatory processes within animal models.

Materials and methods. 55 scientific publications by Russian and international authors (2000–2021) investigating the effects of nucleotides, nucleosides, and purinergic receptors on immune response development, macrophage activation, and cytokine release mechanisms were analyzed. Source databases included eLIBRARY.RU, CyberLeninka, PubMed, NCBI, ResearchGate, CABI, and Google Scholar.

Results. The analysis explored mechanisms of the inflammatory response, including the role of various cells and molecules – cytokines and receptors – in the regulation of the immune response. The latter plays an important role in activating immune system cells and regulating inflammatory reactions. The process of adenosine triphosphate dephosphorylation by CD39 and CD73 enzymes, which promotes the production of adenosine and the activation of anti-inflammatory mechanisms, is discussed. The functions of pro-inflammatory cytokines such as interleukin-1, tumor necrosis factor α and interleukin-6 are analyzed in the context of macrophage activation and neutrophil migration to the site of inflammation. The importance of regulating these processes is emphasized in order to prevent excessive inflammatory response and ensure homeostasis. The mechanisms of transition between the phases of inflammation are examined, including the role of anti-inflammatory cytokines such as interleukin-10 and transforming growth factor β in controlling neutrophil activity and resolving the inflammatory process.

Conclusion. Further study of this topic can deepen the modern knowledge of scientists about the mechanisms of inflammation and create the basis for the development of innovative therapeutic strategies aimed at treating diseases caused by disorders of the immune system.

Keywords: review, nucleotides, receptors, purinergic regulation, CD39, CD73, ATP, ADP, AMP, adenosine, macrophages, cytokines, interleukins

Acknowledgments: The work was carried out with the support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the state assignment of the Federal Agricultural Kursk Research Center (topic FGZU-2022-0004). The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of the work.

For citation: Mosyagin V. V., Isakova E. A., Ryzhkova G. F., Mosyagina I. P. The role of purinergic signaling and cytokine network in the inflammatory process. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 263–273. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-263-273>

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Vladimir V. Mosyagin, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Veterinary Medicine and Biotechnology, Federal Agricultural Kursk Research Center, 70b Karl Marx str., Kursk 305021, Russia, ugnoe_nebo@list.ru

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в медицине и ветеринарии широко используются инновационные лекарственные средства. Внимание ученых во всем мире привлекает разработка препаратов на основе липосом для адресной доставки лекарственных веществ. Особое внимание при этом уделяется созданию иммуномодулирующих липосомальных препаратов, специфически воздействующих на макрофагальное звено иммунитета. В этой области работают ученые лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр», которыми была предложена и апробирована в условиях НОПЦ «Учхоз «Знаменское» Курского государственного аграрного университета методика получения липосомальной иммуностропной композиции для донозологической профилактики патологий у крупного рогатого скота разного возраста.

Иммунная система представляет собой сложный механизм защиты организма от патогенных микроорганизмов. Важную роль в регуляции функций иммунной системы играют нуклеиновые кислоты, пуринергические рецепторы и цитокины. Эти компоненты принимают участие в широком спектре процессов: от передачи сигналов между клетками до обеспечения энергией активных иммунных реакций. Нуклеотиды, такие как аденозинтрифосфат (АТФ), действуют как ключевые посредники в межклеточной коммуникации и внутриклеточном сигналинге. Пуринергические рецепторы, реагирующие на внеклеточные нуклеотиды, способствуют активации воспалительных процессов и регулируют поведение иммунных клеток. Нуклеозиды, необходимые для синтеза ДНК и РНК, поддерживают деление и рост иммунокомпетентных клеток, играя критически

важную роль в адаптивном иммунитете [1, 2]. Четкое понимание функционирования данных механизмов позволяет смоделировать возможные воспалительные процессы в организме животных, а также разработать пути профилактики патологий.

Воспаление играет ключевую роль в иммунном ответе у животных, обеспечивая защиту организма от инфекций, травм и других повреждающих факторов. Этот процесс представляет собой сложную и хорошо скоординированную реакцию, которая включает активацию различных клеток иммунной системы, выделение цитокинов и других медиаторов, а также изменения в кровообращении и проницаемости сосудов. Воспаление является первой линией защиты организма от инфекций. При попадании патогенов (бактерий, вирусов, грибов) в ткани происходит активация местных иммунных клеток, таких как макрофаги и дендритные клетки. Эти клетки распознают патогены и начинают выделять провоспалительные цитокины, что приводит к привлечению дополнительных лейкоцитов к месту инфекции. Воспалительный процесс способствует миграции нейтрофилов и моноцитов из кровотока в пораженные ткани. Нейтрофилы являются первыми клетками, которые реагируют на воспаление, обеспечивая фагоцитоз (поглощение) патогенов и выделение антимикробных веществ. Моноциты, попадая в ткани, дифференцируются в макрофаги, которые продолжают уничтожать патогены и способствуют восстановлению тканей. Воспаление направлено не только на борьбу с инфекцией, но и на устранение повреждений тканей [3, 4, 5].

Макрофаги играют важную роль в процессе заживления, удаляя мертвые клетки и остатки поврежденных тканей. Они также выделяют факторы роста, участвующие в регенерации тканей [4, 6, 7, 8, 9]. Воспаление

способствует активации адаптивного иммунного ответа путем презентации антигенов Т-лимфоцитам. Дендритные клетки, захватывающие патогены во время воспаления, мигрируют в лимфатические узлы, где активируют Т-клетки. Это приводит к формированию специфического иммунного ответа против конкретных патогенов. Хотя воспаление является необходимым для защиты организма, его чрезмерная или длительная активность может привести к повреждению тканей и развитию хронических заболеваний. Поэтому важно наличие механизмов регуляции воспалительного ответа, таких как противовоспалительные цитокины (например, интерлейкин IL-10) и другие молекулы, которые помогают ограничить воспаление после устранения угрозы. Понимание механизмов воспаления имеет важное значение для ветеринарной медицины. Хроническое воспаление связано с рядом заболеваний у животных: аллергии, аутоиммунные расстройства и метаболические болезни [2, 10].

Связь пуринергических рецепторов с цитокиновой сетью является важным аспектом регуляции иммунного ответа и воспалительных процессов в организме. Пуринергические рецепторы, такие как P2X и P2Y, активируются нуклеотидами, такими как аденозин и АТФ, и играют важную роль в иммунном ответе у животных. Пуринергические рецепторы выполняют регуляторную функцию фагоцитарной активности макрофагов. Это приводит к выделению провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 β (IL-1 β) и фактор некроза опухоли α (TNF- α), которые играют важную роль в иницировании и поддержании воспалительного ответа. Аденозин, действуя через рецепторы P1 (например, A2A и A2B), может подавлять выработку провоспалительных цитокинов и способствовать секреции противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10. Это создает баланс между провоспалительными и противовоспалительными сигналами, что чрезвычайно важно для предотвращения избыточного воспаления и повреждения тканей. Пуринергические рецепторы участвуют в регуляции миграции лейкоцитов к месту воспаления. Активация этих рецепторов способствует выделению хемоаттрактантов, таких как IL-6 и IL-8, что усиливает приток иммунных клеток к пораженным участкам [11]. Пуринергическая сигнализация может взаимодействовать с другими клеточными сигнальными путями, включая пути, связанные с Toll-like-рецепторами (TLR). Это взаимодействие может усиливать или модулировать ответ на инфекцию или повреждение тканей. Пуринергические рецепторы играют важную роль в поддержании иммунного гомеостаза. Они помогают регулировать как активацию, так и подавление иммунного ответа, что важно для предотвращения возникновения аутоиммунных заболеваний и хронического воспаления [12, 13, 14, 15].

Таким образом, связь пуринергических рецепторов с цитокиновой сетью представляет собой сложную динамическую систему, которая играет ключевую роль в регуляции иммунного ответа и воспалительных процессов. Понимание этих взаимодействий может помочь в разработке новых терапевтических стратегий для лечения воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

Цель исследования заключается в систематизации данных, отражающих значение пуринергической сигнализации и цитокиновой сети в развитии воспалительных процессов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалами для обзора послужили 55 научных публикаций российских и зарубежных авторов, касающихся вопроса влияния пуринергического взаимодействия и цитокиновой сети на регулирование воспалительных реакций. Поиск необходимых материалов выполнялся в крупных цифровых библиотеках и с использованием ресурсов: eLIBRARY.RU, CyberLeninka, PubMed, NCBI, ResearchGate, CABI, Google Scholar. Используемые ключевые термины включали такие сочетания, как «пуринергическая регуляция», «цитокиновая сеть», «CD39», «CD73», «АТФ», «АДФ», «АМФ», «аденозин», «макрофаги», «цитокины», «интерлейкины», «фактор некроза опухоли».

Отбор ресурсов для обзора производился согласно следующим критериям: актуальность исследований, значимость материала, четкость изложения использованных методик, присутствие аналитического раздела, содержащего обсуждение полученных результатов и сопоставление их с работами других специалистов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пуринергическая сигнализация в организме животных включает в себя взаимодействие пуринов, таких как аденозин и АТФ, с пуриновыми рецепторами, которые находятся на поверхности клеток. Эти рецепторы делятся на две основные группы: P1 (аденозиновые) и P2 (АТФ-рецепторы) [2, 3, 4]. Аденозин играет противовоспалительную роль, активируя P1-рецепторы, что приводит к снижению продукции провоспалительных цитокинов и уменьшению активности иммунных клеток. Аденозин также способствует восстановлению тканей, что важно в процессе заживления. Напротив, АТФ, действующий через P2-рецепторы, может вызывать воспаление. Он активирует макрофаги и другие клетки иммунной системы, способствуя выделению провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β и TNF- α , что может привести к усилению воспалительного ответа и даже к повреждению тканей. Процесс высвобождения АТФ активируется под воздействием стресс-факторов: воспалительных процессов, гипоксии, апоптоза или некроза [3, 4, 5].

Воспалительные и гипоксические состояния приводят к повышенному высвобождению АТФ и АДФ (аденозиндифосфата), что обуславливает рост уровня аденозина во внеклеточной среде [1, 11]. Гипоксия и индуцируемые гипоксией факторы (HIF) дополнительно способствуют увеличению концентрации аденозина во внеклеточной среде посредством транскрипционной регуляции генов, отвечающих за рецепторы и метаболизм аденозина [12, 13, 14, 15, 16, 17]. Важность метаболизма внеклеточного аденозина очевидна у мышей с генетическим дефектом эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазы-1 (CD39) и экто-5'-нуклеотидазы (CD73), что приводит к снижению концентрации аденозина и нарушению передачи сигналов, несмотря на повышенный или нормальный уровень АТФ. Передача сигналов аденозина играет ключевую роль в реакции легких на повреждение. Связываясь с аденозиновыми рецепторами на поверхности клеток, сопряженными с G-белком, аденозин оказывает различное воздействие на процессы воспаления, восстановления и ремоделирования [18, 19, 20], вызывая как защитные, так и разрушительные реакции. Аденозин играет противовоспалительную

и защитно-восстановительную роль, в частности за счет активации аденозиновых рецепторов A2A и A2B (A2AAR, A2BAR). Однако хронически повышенный уровень аденозина с активацией аденозиновых рецепторов A1 (A1AR), A2BAR и A3 (A3AR) способствует провоспалительному состоянию и чрезмерному нерегулируемому ремоделированию тканей, что приводит к развитию и прогрессированию хронических заболеваний легких [10, 21].

Роль пуриновых нуклеотидов, нуклеозидов и пуринергических сигналов в остром и хроническом воспалении была тщательно изучена, особенно в отношении АТФ, АДФ и аденозина. АТФ в норме обнаруживается в клетках млекопитающих. При таких патологических состояниях, как воспаление и ишемия, АТФ высвобождается из внутриклеточных запасов из-за клеточного некроза [19, 20, 22, 23]. Во время апоптоза полуканалы панексина контролируют высвобождение АТФ во внеклеточное пространство, где АТФ служит хемотаксическим сигналом для фагоцитов [24]. Воспалительные клетки (например, нейтрофилы) и эндотелиальные клетки могут высвобождать АТФ через полуканалы коннексина [25, 26, 27, 28]. АДФ может высвобождаться из внутриклеточных гранул тромбоцитов. АТФ-сигналы проходят через рецепторы, первоначально обозначенные как P2-рецепторы [25], а затем переклассифицированные в P2X-рецепторы (лиганд-зависимые ионные каналы) и P2Y-рецепторы (рецепторы, сопряженные с G-белком). Мыши с генетически удаленными P2-рецепторами жизнеспособны и защищены от воспалительных заболеваний, таких как астма, воспаление сосудов и реакция «трансплантат против хозяина» [18, 29, 30, 31, 32]. Фармакологический антагонизм рецепторов P2 приводил к подавлению воспаления при воспалительных заболеваниях кишечника, воспалении легких и ишемически-реперфузионном повреждении [26, 31, 33].

Взаимодействие аденозина с P1-рецепторами происходит во внеклеточной среде; данные рецепторы образуют группу G-белковых рецепторов, включающую четыре разновидности: A1, A2A, A2B и A3. Рецепторы A1 и A2A характеризуются высоким родством, тогда как у A2B и A3 оно значительно ниже. Все разновидности оказывают воздействие на функционирование аденилатциклазы и процесс образования циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Средства A2A и A2B активизируют данный процесс, тогда как компоненты A1 и A3 тормозят его [2, 10, 11, 12].

Молекула АТФ взаимодействует с P2-пуринергическими рецепторами на поверхности клеток. Эти рецепторы делятся на два основных типа: P2X и P2Y. Рецепторы P2X представляют собой ионные каналы. Это означает, что, когда АТФ связывается с P2X-рецептором, он открывает канал, позволяющий определенным ионам проникать внутрь клетки. Через эти каналы проходят ионы натрия (Na^+), кальция (Ca^{2+}) и калия (K^+). Таким образом, АТФ, связываясь с P2X-рецептором, запускает процесс перемещения этих ионов внутрь клетки (поток ионов зависит от градиента концентрации и электрического потенциала). Этот процесс играет важную роль в клеточной сигнализации и различных клеточных функциях [4, 5]. P2Y-рецепторы представляют собой специализированные белки, расположенные на внешней стороне клеточной мембраны и способные распознавать АТФ и АДФ, а также ряд сходных веществ.

Связываясь с этими веществами, рецепторы запускают внутриклеточные каскады реакций, задействуя G-белки, что влияет на активность важных ферментов аденилатциклазы и фосфолипазы C, а также регулирует функционирование ионных каналов, определяя степень проникновения ионов внутрь клетки. Данные рецепторы присутствуют на поверхностях клеток иммунной системы и эндотелия – слоя клеток, выстилающего стенки кровеносных сосудов изнутри [14, 15, 16].

Эксперименты на генетически модифицированных мышах, лишенных рецепторов P2X и P2Y, показали, что отсутствие этих рецепторов не препятствует нормальному развитию и достижению животными взрослого возраста. Более того, исследования, сфокусированные на мышах с отсутствием именно рецепторов P2X2 и P2X3 (подтип P2X-рецепторов), выявили интересный эффект: у таких животных наблюдали рост количества иммунных клеток и увеличение размеров селезенки – важного органа иммунной системы. Это указывает на то, что рецепторы P2X2 и P2X3 играют определенную роль в регуляции иммунной системы, и их отсутствие приводит к гипертрофии иммунного ответа. В своих публикациях A. Surprenant et al. [6] и E. Kaniewska et al. [7] ссылаются на источники, подтверждающие эти данные.

Результаты исследований показывают сложность функций P2Y-рецепторов и их участие в регуляции клеточной активности и иммунном ответе организма. Отсутствие рецепторов P2X/P2Y не является летальным фактором, но специфическое отсутствие подтипов P2X2 и P2X3 приводит к заметным изменениям в иммунной системе [6, 15].

Установлено, что АТФ может активно высвобождаться из неповрежденных клеток в ответ на механическую деформацию, гипоксию или ацетилхолин, которые не повреждают клетку [7, 11, 12]. Например, впервые о высвобождении АТФ из неповрежденных клеток было сообщено в отношении нейронов, которые выделяют АТФ в цель химических синапсов [13]. Однако было показано, что лежащий в основе механизм очень сложен и включает в себя активируемые растяжением каналы, потенциал-зависимые анионные каналы, рецепторы P2X7, а также коннексиновые и паннексиновые полуканалы [14].

В отличие от внутриклеточного АТФ, который в основном используется в качестве источника энергии, внеклеточный АТФ считается мощной сигнальной молекулой, воздействующей на нуклеотид-селективные рецепторы P2. Внеклеточный АТФ быстро метаболизируется до аденозина с помощью эктонуклеотидазы [25]. Эктонуклеотидазы состоят из четырех типов семейств, включающих семейство эктонуклеотидпирофосфатаз/фосфодиэстераз (ENPP), семейство эктонуклеотидтрифосфатдифосфогидролаз (ENTPDase), щелочные фосфатазы (AP) и CD73 [15, 16]. Внеклеточный аденозин, промежуточный метаболит нуклеотидов, может подвергаться трем процессам: превращению в инозин под действием аденозиндезаминазы, обратному превращению в аденозинмонофосфат (АМФ) под действием аденозинкиназы и клеточной реутилизации с помощью концентрирующих переносчиков нуклеозидов (CNT) или уравнивающих переносчиков нуклеозидов (ENT) [15, 17, 18].

Широко изучены пуринергические рецепторы в сигнальных системах, реагирующих на внеклеточный АТФ и родственные ему нуклеотиды. Пуринергические

рецепторы делятся на три основных семейства в зависимости от их структурных и биологических свойств [19]. Рецепторы P2Y, связанные с G-белком, распознают АТФ и несколько других нуклеотидов, включая АДФ, уридинтрифосфат (УТФ), уридиндифосфат (УДФ) и УДФ-глюкозу [20]. Рецепторы P2X функционируют как АТФ-зависимые ионные каналы, которые способствуют притоку и оттоку внеклеточных катионов, в том числе ионов кальция, реагирующих только на АТФ [20, 22]. На сегодняшний день P2Y-рецепторы состоят из восьми подтипов: P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13 и P2Y14. Рецепторы P2X имеют семь субъединиц, которые могут образовывать шесть гомомерных (P2X1–P2X5 и P2X7) и по меньшей мере семь гетеромерных (P2X1/2, P2X1/4, P2X1/5, P2X2/3, P2X2/5, P2X2/6 и P2X4/6) рецепторов [21, 22, 23]. Преобразование АТФ/АДФ в аденозин с помощью эктонуклеотидаз прерывает передачу сигналов P2R во внеклеточном пространстве. Аденозин может передавать сигналы через четыре различных аденозиновых рецептора, связанных с G-белком (рецепторы P1): A1, A2A, A2B и A3 [24, 25, 26]. Подтипы пуринергических рецепторов широко распространены в иммунных клетках и центральной нервной системе (ЦНС) [25, 27, 28].

Внеклеточные АТФ и АДФ быстро превращаются в АМФ, который затем метаболизируется до аденозина [30].

Внеклеточный аденозин воздействует на один из четырех G-белков, связанных с семью мембранно-связанными рецепторами на поверхности клетки: A1AR, A2AAR, A2BAR и A3AR [1, 34]. Подтипы аденозиновых рецепторов по-разному экспрессируются в каждой клетке-мишени. A2AAR в значительной степени экспрессируется в иммунных клетках, таких как нейтрофилы [35, 36] и лимфоциты, а A2BAR в значительной степени экспрессируется в эндотелиальных клетках сосудов [37, 38]. Мыши с нокаутированными аденозиновыми рецепторами жизнеспособны, и не существует известных заболеваний человека, связанных с мутациями и дефектами аденозиновых рецепторов. Однако функции аденозиновых рецепторов были изучены при многих патологических состояниях. Например, хронотропное действие аденозина через A1AR играет важную роль в лечении наджелудочковой тахикардии. A2AAR выполняет противовоспалительные функции в нейтрофилах, снижая активацию воспалительных клеток в различных местах [19, 39, 40, 41]. Антагонисты A2AAR оказывают положительное влияние при болезни Паркинсона. A2BAR способствуют адаптации тканей в ответ на воспаление, ишемию и гипоксию [42, 43, 44]. A3AR участвует в выработке внутриглазной жидкости [45], а агонисты A3AR доказали свою эффективность при лечении синдрома сухого глаза [46].

Внеклеточный аденозин может проникать в клетку с помощью концентрационных или равновесных переносчиков нуклеозидов, известных как CNT и ENT. Эти каналы, ограниченные диффузией, позволяют аденозину свободно проникать через клеточную мембрану по градиенту концентрации [21]. Попадание аденозина во внутриклеточное пространство снижает передачу сигналов аденозина [45]. Передача сигналов аденозина также может быть прекращена путем дезаминирования внеклеточного аденозина до инозина с помощью аденозиндеаминазы (ADA), сопряженной с CD26 на поверхности клетки, или путем фосфорилирования

обратно до АМФ с помощью аденозинкиназы [22]. Генетический дефицит ENTs не является смертельным. У мышей с дефицитом ENTs наблюдается повышенный уровень аденозина, который обеспечивает защиту во время таких заболеваний, как ишемия органов [41]. Фармакологическая блокада ENT дипиридамолом, приводящая к накоплению внеклеточного аденозина, вызывающего расширение коронарных артерий, используется в стресс-эхокардиографии для выявления коронарных атеросклеротических поражений. Антагонизм ENT также используется для ингибирования агрегации тромбоцитов и предотвращения повторения инсульта, а также для сохранения проходимости гемодиализных трансплантатов. У мышей с дефицитом ADA наблюдается повышенный уровень аденозина во внеклеточной жидкости, что приводит к тяжелому воспалению легких и фиброзу. У людей дефект в гене ADA вызывает тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД), вызванный метаболитами аденозина, оказывающими цитотоксическое воздействие на лимфоциты. ТКИД, связанный с дефицитом ADA, успешно лечится с помощью генной терапии ADA [39]. Противовоспалительное действие циклоспорина может быть частично обусловлено ингибированием аденозинкиназы, что приводит к повышению уровня аденозина [40].

Доступность внеклеточных нуклеотидов для активации пуринергических рецепторов регулируется ферментами, такими как CD39 и ENPP. CD39 расщепляет АТФ до АМФ и фосфатов, способствуя отложению гидроксиапатита, тогда как неорганический пирофосфат (PPi), образуемый ENPP, может ингибировать кальцификацию. Однако активность тканевой щелочной фосфатазы может преобразовывать PPi в фосфат, что инициирует кальцификацию [44, 47].

Эксперименты показывают, что пуринергическая сигнальная система, включая CD39 и CD73, активно участвует в кальцификации аортальных клапанов. В частности, исследования на свинных аортальных клапанах показали высокую экспрессию CD39 и CD73 как в эндотелиальных, так и в интерстициальных клетках. Культивирование клеток с добавлением внеклеточных нуклеотидов приводит к различной активности CD73 и CD39, что указывает на их разные роли в кальцификации.

В экспериментах *in vitro* с гладкомышечными клетками сосудов было установлено, что добавление β -глицерофосфата и уридинаденозинтетрафосфата (Up4A) усиливает кальцификацию, активируя рецепторы P2X и P2Y. Кроме того, ингибирование пуринергических рецепторов, таких как P2Y, может снижать кальцификацию клапанов.

Было показано, что P2Y2-рецептор активируется в различных тканях в ответ на стресс или повреждение и способствует регенерации тканей благодаря своей способности активировать множественные сигнальные пути. Многие исследования показывают, что опосредованная АТФ и P2Y2-рецептором передача сигналов, по-видимому, влияет на различные биологические процессы, такие как выработка хемотаксических сигналов и/или активация различных иммунных клеток, заставляя воспалительные клетки мигрировать, размножаться, дифференцироваться или высвобождать различные медиаторы воспаления [48].

Аденозинтрифосфат также вызывает хемотаксис нейтрофилов посредством полимеризации актина

и прямой ориентации клеток с помощью обратной связи, включающей P2Y₂-рецептор [49]. Последующая активация P2Y₂-рецептора усиливает восприятие хемотаксических сигналов (например, N-формилпептидов и IL-8) за счет стимуляции F-актина на переднем крае. Хемотаксис нейтрофилов к очагам инфекции имеет решающее значение для иммунной защиты и физиологического подавления воспаления, вызванного нейтрофилами [50].

Следовательно, сигнальная система, основанная на взаимодействии АТФ и рецептора P2Y₂, обладает двояким действием. Она способна обеспечивать защиту организма от инфекций, ускорять регенерацию поврежденных и усиливать очистительную функцию дыхательных путей. Однако одновременно эта же сигнализация может вызывать неконтролируемое воспаление, приводящее к хронизации воспалительных процессов и формированию фибротических изменений ткани [19, 34].

Рецептор P2Y₆ аналогично проявляет себя в виде двунаправленного фактора влияния на воспалительные реакции. Данный рецептор критичен для формирования врожденного иммунного ответа на бактериальные патогены. Многочисленные эксперименты демонстрируют, что активация P2Y₆-рецептора стимулирует выброс хемокинов из клеток иммунной системы, таких как моноциты, дендритные клетки и эозинофилы, и способствует привлечению моноцитов/макрофагов в очаг воспаления или инфицированной зоны [48].

При нейродегенеративных заболеваниях микроглия участвует в удалении мертвых клеток, что крайне важно для поддержания функций мозга. Внеклеточный АТФ регулирует динамику подвижности микроглии в неповрежденном мозге, а его высвобождение из поврежденных тканей обеспечивает быструю реакцию микроглии на повреждение [43]. Более того, было показано, что УТФ и УДФ, высвобождаемые из поврежденных нейронов, усиливают фагоцитарную способность микроглии по отношению к умирающим клеткам посредством активации P2Y₆-рецептора, выступая в качестве сигнала «съешь меня» для микроглии. Считается, что этот сигнал является важным инициатором удаления умирающих клеток или их фрагментов из ЦНС [48].

При воспалении эндотелия или эпителия сигнальный путь, опосредованный рецептором P2Y₆, оказывает негативное воздействие. К идиопатическим воспалительным заболеваниям кишечника относятся, в частности, болезнь Крона и язвенный колит – хронические заболевания, возникающие из-за неадекватной воспалительной реакции на кишечную микрофлору у людей с генетической предрасположенностью. Экспериментальные исследования колитного процесса показали увеличение экспрессии как P2Y₂, так и P2Y₆-рецепторов в клетках эпителия кишечника [41, 45, 46].

Также P2Y₆-рецептор оказывает существенное воздействие на возникновение и прогрессирование как острой, так и хронической аллергии дыхательных путей. Ингибирование рецептора P2Y₆ либо его недостаточность в структурных клетках дыхательной системы приводят к уменьшению проявлений бронхиальной астмы в экспериментах. Последние исследования продемонстрировали, что рецепторы P2Y₆ не только активируются в составе атеросклеротических бляшек у лабораторных животных, но и играют существенную роль в патогенезе воспалительных процессов.

Активация P2Y₆-рецептора важна для запуска врожденного иммунного ответа на инфекционное поражение, однако избыточная стимуляция данного рецептора может спровоцировать нежелательные последствия, например, формирование хронических воспалительных состояний [48].

Рецептор P2X₇ преимущественно представлен в клетках иммунной системы, среди которых выделяют мастоциты, макрофаги, микроглии и дендритные клетки. Большое количество экспериментов подтверждает участие данного рецептора в защитной функции организма против бактерий и паразитов в условиях воспаления и иммунного ответа. Сигнал, исходящий от P2X₇-рецептора, оказывается центральным звеном в организации иммунного ответа на бактериальные и паразитические инфекции. Установлено, что он участвует в уничтожении внутриклеточных патогенов, таких как *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis* и *Leishmania amazonensis*, либо путем непосредственного уничтожения микроорганизма, либо посредством стимуляции апоптоза инфицированных макрофагов [19]. Кроме того, данный рецептор участвует в развитии лихорадки, стимулируя выработку простагландина E₂ (PGE₂) и IL-1 β [20].

Широко известно, что P2X₇-рецептор опосредует провоспалительные эффекты, вызванные внеклеточным АТФ. Однако, как показало недавнее исследование, этот рецептор также функционирует как один из «мусорщиков», участвующих в распознавании и удалении апоптотических клеток даже в отсутствие внеклеточного АТФ, и рецептор P2X₇ представляет собой перспективную мишень для разработки новых лекарственных средств [30, 44].

В ЦНС активация P2X₇-рецептора способствует нейровоспалению, приводя к высвобождению провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β и TNF- α . Она также активирует MAP-киназы (митоген-активируемые протеинкиназы) и транскрипционный фактор NF- κ B, что приводит к усилению экспрессии провоспалительных генов, включая циклооксигеназу-2 (COX-2) и рецептор P2Y₂. У мышей с нокаутом P2X₇-рецептора β -амилоидный пептид (A β) вызывал повышение внутриклеточного уровня Ca²⁺, высвобождение АТФ, секрецию IL-1 β и увеличение проницаемости плазматической мембраны в микроглии [25]. В частности, ингибирование P2X₇-рецептора у мышей, трансгенных по мутантному человеческому белку-предшественнику амилоида (APP), приводило к значительному уменьшению количества амилоидных бляшек в гиппокампе [48]. Таким образом, идентификация внеклеточного АТФ и P2X₇-рецептора как ключевых факторов, участвующих в A β -зависимой активации микроглии, раскрывает ранее неизвестный механизм нейровоспаления и открывает перспективы для разработки новых фармакологических подходов.

Внеклеточная передача сигналов АТФ и P2X₇-рецептора также способствует развитию воспаления легких и эмфиземы, вызванных курением. У мышей с дефицитом P2X₇-рецептора наблюдается снижение воспалительных реакций, в том числе уменьшение фиброза легких на мышинной модели воспаления легких. Ингибирование этого рецептора может стать новой возможной терапевтической мишенью для лечения хронической обструктивной болезни легких [29, 30].

Пуринергический рецептор P2X₇ вовлечен в активацию и освобождение важнейших интерлейкинов IL-1

и IL-18, активно участвующих в различных воспалительных реакциях, имеющих отношение к патогенезу ревматоидного артрита. Установлено, что P2X7-рецептор присутствует на синовиоцитах суставов при ревматоидном артрите и способствует регулировке продукции IL-6. Более того, активация рецептора P2X7 непосредственно связана с тканевым повреждением вследствие освобождения катепсинов при суставных болезнях. Несмотря на успешность препарата-антагониста P2X7-рецепторов AZD9056 в снижении воспаления суставов и предотвращении дальнейшего разрушения костной ткани в исследованиях на животных [38], последующие его клинические испытания у больных ревматоидным артритом не привели к замедлению течения заболевания [19, 39]. Также продолжаются аналогичные клинические испытания эффективности и безопасности AZD9056 при болезни Крона.

Итак, сигналы, поступающие через P2X7-рецептор, не только важны для адекватного протекания воспалительных и иммунных реакций в ответ на внедрение патогенов, но и способствуют развитию множества хронических воспалительных заболеваний при нарушении нормального функционирования.

Исследования также показали, что нарушения в пуринергическом пути могут приводить к развитию различных заболеваний, таких как аутоиммунные, сердечно-сосудистые патологии и онкологические процессы [51]. Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе этих нарушений, позволит разработать новые подходы к диагностике и лечению этих состояний, дальнейшее исследование пуринергической регуляции воспаления имеет огромное значение для развития медицинской науки и практики. Оно открывает перспективы для создания инновационных методов лечения, направленных на улучшение качества жизни пациентов и снижение заболеваемости населения.

Кроме того, обнаружено, что аденозин, образующийся в результате метаболизма АТФ, обладает противовоспалительным действием, подавляя активность иммунных клеток и снижая выраженность воспалительного процесса. Это делает аденозин потенциальной мишенью для разработки новых лекарственных препаратов.

Таким образом, изучение механизмов пуринергической регуляции воспаления представляет собой важный аспект современной медицины и биологии. Установлено, что АТФ и АДФ играют ключевую роль в активации иммунных клеток и запуске воспалительных реакций. Эти нуклеотиды действуют через специфические рецепторы P2X и P2Y, вызывая каскад реакций сигнальных путей, приводящих к высвобождению цитокинов и хемокинов.

Цитокины представляют собой группу белков, вырабатываемых различными клетками организма, включая иммунные клетки, эндотелиальные клетки и фибробласты. Они выполняют разнообразные функции: привлечение и активацию иммунных клеток, стимуляцию пролиферации и дифференцировки клеток, а также индукцию синтеза других медиаторов воспаления.

Важно отметить, что пуринергическая система тесно взаимодействует с цитокиновой сетью. Например, АТФ и АДФ могут стимулировать выработку цитокинов, таких как IL-1 β , TNF- α и интерферон- γ , через активацию соответствующих рецепторов. В свою очередь, цитокины могут модулировать экспрессию пуринергических

рецепторов и влиять на метаболизм АТФ и аденозина. Таким образом, взаимодействие между этими двумя системами является ключевым фактором в определении характера и интенсивности воспалительного ответа. Цитокины играют ведущую роль в организации взаимодействия между клетками во время воспалительного ответа, обеспечивая как содействие, так и подавление клеточной кооперации [4]. АТФ при помощи хемотаксиса стимулирует фагоциты к выработке активных форм кислорода, а макрофаги – к синтезу провоспалительных цитокинов [1, 2, 3, 4].

Провоспалительные цитокины – это небольшие белковые молекулы, вырабатываемые клетками иммунной системы организма, главным образом макрофагами, Т-клетками и дендритными клетками. Они играют ключевую роль в запуске и поддержании воспалительного процесса, обеспечивая взаимодействие между различными компонентами иммунной системы и стимулируя защитные реакции против инфекций и повреждений тканей. Эти цитокины действуют совместно, формируя каскад реакций, направленных на устранение патогенных агентов и восстановление поврежденных тканей. Однако избыточная продукция провоспалительных цитокинов может привести к развитию хронических воспалительных заболеваний, аутоиммунных расстройств и даже сепсису.

К провоспалительным цитокинам относятся IL-1, TNF- α и IL-6. Эти вещества вызывают местные и системные изменения, характерные для развития острой воспалительной реакции [9, 10]. IL-1 играет ключевую роль, активируя широкий спектр защитных механизмов, привлекая клетки-эффекторы, которые уничтожают патогены и принимают участие в восстановлении тканей [2]. По истечении 2 ч после воздействия антигена начинается выход зрелых форм интерлейкинов во внешнюю среду, достигая максимального уровня секреции через 24–48 ч. Далее происходит быстрое снижение их активности [9, 11].

Цепь воспалительных процессов запускается активацией эндотелиальных клеток [11, 12, 13, 14, 15]. Выделяемые в месте воспаления цитокины воздействуют на эндотелий, что приводит к формированию клеточного инфильтрата, специфичного для каждого типа воспаления. Появление и накопление разных форм лейкоцитов в процессе формирования очага воспаления связан с изменениями в активности адгезивных молекул, расположенных на поверхности эндотелия и лейкоцитов, а также с трансформацией состава воспалительных веществ, производимых этими клетками [16, 17]. Повреждение тканей запускает каскад реакций, в результате которых происходит миграция нейтрофилов из кровеносных сосудов и формируется острое воспаление [17, 18, 19]. Под влиянием IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 на эндотелии повышается продукция адгезионных молекул, таких как E- и P-селектины, ICAM1 и VCAM1, которые регулируют перемещение функциональных клеток и их проникновение в ткани через стенки сосудов [11, 18, 19, 20]. Этот процесс усиливается за счет сокращения эндотелиальных клеток и увеличения размера межклеточных пространств. В области воспаления активированный эндотелий выделяет хемокины (MCP1, IL-8) и цитокины (IL-1, IL-6, GM-CSF) для привлечения и активации нейтрофилов и моноцитов [18]. Кроме того, стимуляция эндотелиальных клеток приводит к образованию фосфолипидов на их поверхности [11, 12, 13].

Цитокины IL-1, IL-6, GM-KCF, TNF- α стимулируют образование нейтрофильных колоний в культурах костного мозга, активируют высвобождение нейтрофилов из костного мозга и поддерживают их жизнеспособность, что приводит к увеличению количества нейтрофилов в кровотоке [21, 22, 23].

Вначале к очагу повреждения перемещаются нейтрофилы, а на последующем этапе воспалительного ответа они замещаются моноцитами благодаря секреции нейтрофилами хемокинов, которые воздействуют на моноциты/макрофаги [21, 23]. Роль нейтрофилов в воспалительном процессе включает в себя мобилизацию клеток из костного мозга в кровь, их скопление по краям сосудов и выход из них, миграцию к месту повреждения, формирование лейкоцитарного вала, фагоцитоз, выделение лизосомальных ферментов и самоликвидацию [23]. Хемокины, выделяемые нейтрофилами, выступают в качестве первых сигнальных молекул, запускающих выход нейтрофилов из кровотока и их направленное перемещение к месту проникновения инфекции. Важную роль в привлечении лейкоцитов играет IL-8 [21, 24, 25].

Первое воздействие IL-8 на нейтрофилы запускает процесс активации их сократительного цитоскелета и формирования широких цитоплазматических выростов. Эти изменения заметны уже через 20–30 с и достигают наивысшей интенсивности примерно через 1,52 мин [26]. Нейтрофилы постоянно имеют на своей клеточной мембране молекулы L-селектина, что позволяет им запускать роллинг и замедлять ход в капиллярах. Высвобождаемый в этом участке IL-8 связывается с особыми рецепторами на поверхности нейтрофилов, заставляя перераспределяться молекулам L-селектина для более плотного прилегания к эндотелию, а также активируя экспрессию интегринов LFA-1 и Integrin-1 на поверхности макрофагов (Mac1). За счет взаимодействия этих адгезивных молекул роллинг между нейтрофилами и эндотелиоцитами прекращается, после чего нейтрофилы проникают в ткани и двигаются к источнику хемоаттрактанта [27]. IL-8 стимулирует выход нейтрофилов из посткапиллярных венул [2], что вызывает их массовое проникновение в область острого воспаления [28]. Также он увеличивает уровень внутриклеточного кальция в нейтрофилах, обеспечивая их миграцию и активируя пентозофосфатный путь, что ведет к усилению продукции активных форм кислорода. Помимо этого, воздействие IL-8 вызывает выброс ферментов из нейтрофилов посредством дегрануляции. Производство IL-8 возрастает благодаря паракринному действию TNF- α и IL-1 на близлежащие макрофаги [2, 9, 10].

Противовоспалительные цитокины представляют собой группу небольших сигнальных молекул, выделяемых иммунокомпетентными клетками организма, таких как регуляторные Т-клетки, макрофаги и другие типы клеток. Их главная задача заключается в ограничении воспаления и предотвращении чрезмерной активности иммунной системы, способствуя восстановлению баланса и снижению риска повреждения здоровых тканей [49, 50, 52].

Противовоспалительные цитокины участвуют в сложном механизме контроля иммунной системы, защищая организм от гиперреакций и последствий хронического воспаления. Например, трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и IL-10 активно используются ор-

ганизмом для защиты слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта от агрессивных воздействий микрофлоры кишечника [40, 53].

Кроме того, дисбаланс между уровнем провоспалительных и противовоспалительных цитокинов может приводить к различным патологиям, таким как хроническое воспаление, аутоиммунные заболевания и аллергия.

Некоторые противовоспалительные цитокины оказывают угнетающее воздействие на нейтрофилы, практически полностью подавляя выработку провоспалительных цитокинов [54]. TGF- β , в свою очередь, препятствует прилипанию лейкоцитов к эндотелию и снижает секрецию супероксидных радикалов, а также монокинов (IL-1, IL-6, TNF- α) [2, 4, 18, 21, 29]. IL-10 и TGF- β подавляют не только продукцию провоспалительных монокинов, но и нейтрофилокинов, блокируя транскрипцию генов, отвечающих за выработку цитокинов воспаления, в нейтрофилах [18]. IL-6, ингибируя синтез IL-1 и TNF- α [2, 4, 18, 21], стимулирует выработку рецепторного антагониста IL-1 и способствует апоптозу нейтрофилов. Таким образом, IL-6 выступает в роли негативного регулятора в цитокиновой сети, контролирующей активность нейтрофилов, и формирует их функциональный фенотип в угасающем очаге воспаления [4, 30]. Кроме того, нейтрофилы сами способны модулировать свою восприимчивость к монокинам, сбрасывая рецепторы к ним в состоянии повышенной активности. Отделившись от поверхности нейтрофилов рецепторы действуют как своеобразные ловушки для цитокинов, уменьшая их воздействие на другие клетки.

Контроль миграции нейтрофилов в область инфицирования критически важен для перехода воспалительного процесса к фазе, доминируемой моноцитами и макрофагами. Это также необходимо для того, чтобы избежать чрезмерной активности нейтрофилов, которая может привести к потере их функциональности и возникновению нежелательных иммунных реакций [4]. Лейкоцитарная стадия воспаления, то есть период от начала воздействия повреждающего фактора до начала массового отмирания нейтрофилов в очаге, длится у млекопитающих примерно 12–24 ч [23]. Следовательно, цитокины играют ключевую роль в формировании эффективной и сбалансированной воспалительной реакции, регулируя ее как в сторону усиления, так и в сторону подавления и определяя последовательность фаз воспалительного процесса.

Взаимодействие между пуриnergической сигнализацией и цитокиновой сетью является важным аспектом регуляции воспалительного ответа. Например, активация P2-рецепторов АТФ может привести к высвобождению провоспалительных цитокинов, что, в свою очередь, увеличивает уровень АТФ и активирует пуриnergическую сигнализацию. Это создает порочный круг, который может усугубить воспаление.

С другой стороны, аденозин, активируя P1-рецепторы, может подавлять выработку провоспалительных цитокинов и способствовать выработке противовоспалительных цитокинов, что способствует завершению воспалительного процесса [43, 55].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование роли пуриnergической сигнализации и цитокиновой сети в воспалительном процессе представляет собой перспективное направление

современной медицины и биологии. Проведенный анализ обширной отечественной и международной научной литературы показал значительное разнообразие молекулярных механизмов, участвующих в регулировании воспаления, и выявил ключевое значение пуринергических рецепторов и медиаторов воспаления, таких как цитокины, в поддержании гомеостаза и развитии патологии.

Основопологающим аспектом является взаимодействие пуринергических сигналов и цитокиновой сети, обеспечивающее тонкую настройку активности макрофагов и Т-клеток, способствующих развитию как защитных, так и повреждающих эффектов при инфекционных заболеваниях, аутоиммунных нарушениях и онкологических процессах. Важно отметить, что нарушение баланса между провоспалительным и противовоспалительным сигналами ведет к возникновению хронического воспаления, которое лежит в основе многих тяжелых заболеваний, в частности сердечно-сосудистых болезней, сахарного диабета, артритов, рака.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение препаратов, модулирующих активность пуринергических рецепторов и уровень цитокинов, может стать эффективным инструментом терапии воспалительных заболеваний различного происхождения. Например, вещества, стимулирующие синтез противовоспалительных метаболитов, таких как аденозин, способны подавлять чрезмерную активацию иммунной системы и уменьшать повреждение тканей при аутоиммунных патологиях. Напротив, блокаторы рецепторов, чувствительных к провоспалительным агентам, помогают предотвратить развитие острых и хронических форм воспаления.

Таким образом, глубокое понимание взаимосвязей между пуринергическими системами и цитокиновыми сетями создает предпосылки для разработки принципиально новых лекарственных препаратов, нацеленных на коррекцию нарушений иммунной регуляции и профилактику опасных осложнений, связанных с патологически усиленным воспалением. Будущие исследования в данном направлении обещают внести значительный вклад в улучшение качества жизни пациентов и снижение социальной нагрузки от распространенных заболеваний, характеризующихся выраженными воспалительными процессами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Головкин А. С., Асадуллина И. А., Кудрявцев И. В. Пуринергическая регуляция основных физиологических и патологических процессов. *Медицинская иммунология*. 2018; 20 (4): 463–476. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-4-463-476>
- Coutinho-Silva R., Knight G. E., Burnstock G. Impairment of the splenic immune system in P2X₂/P2X₇ knockout mice. *Immunobiology*. 2005; 209 (9): 661–668. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2004.09.007>
- Eltzschig H. K., Sitkovsky M. V., Robson S. C. Purinergic signaling during inflammation. *New England Journal of Medicine*. 2012; 367 (24): 2322–2333. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1205750>
- Lazarowski E. R. Vesicular and conductive mechanisms of nucleotide release. *Purinergic Signalling*. 2012; 8 (3): 359–373. <https://doi.org/10.1007/s11302-012-9304-9>
- Faas M. M., Sáez T., de Vos P. Extracellular ATP and adenosine: The Yin and Yang in immune responses? *Molecular Aspects of Medicine*. 2017; 55: 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.01.002>
- Surprenant A., North R. A. Signaling at purinergic P2X receptors. *Annual Review of Physiology*. 2009; 71: 333–359. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100630>
- Kaniewska E., Sielicka A., Sarathchandra P., Pelikant-Malecka I., Olkiewicz M., Słomińska E. M., et al. Immunohistochemical and functional analysis of ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1 (CD39) and ecto-5'-nucleotidase (CD73) in pig aortic valves. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*. 2014; 33 (4–6): 305–312. <https://doi.org/10.1080/15257770.2014.885985>
- Orriss I., Syberg S., Wang N., Robaye B., Gartland A., Jorgensen N., Arnett T., Boeynaems J. M. Bone phenotypes of P2 receptor knockout mice. *Frontiers in Bioscience-Scholar*. 2011; 3 (3): 1038–1046. <https://doi.org/10.2741/208>
- Ledderose C., Bao Y., Kondo Y., Fakhari M., Slubowski C., Zhang J., Junger W. G. Purinergic signaling and the immune response in sepsis: a review. *Clinical Therapeutics*. 2016; 38 (5): 1054–1065. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.04.002>
- Ledderose C., Bao Y., Ledderose S., Woehrle T., Heinisch M., Yip L., et al. Mitochondrial dysfunction, depleted purinergic signaling, and defective T cell vigilance and immune defense. *The Journal of Infectious Diseases*. 2016; 213 (3): 456–464. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv373>
- Colgan S. P., Eltzschig H. K., Eckle T., Thompson L. F. Physiological roles for ecto-5'-nucleotidase (CD73). *Purinergic Signalling*. 2006; 2: 351–360. <https://doi.org/10.1007/s11302-005-5302-5>
- Bynoe M. S., Waickman A. T., Mahamed D. A., Mueller C., Mills J. H., Czaplik A. CD73 is critical for the resolution of murine colonic inflammation. *BioMed Research International*. 2012; 2012:260983. <https://doi.org/10.1155/2012/260983>
- Muller-Haegeler S., Muller L., Whiteside T. L. Immunoregulatory activity of adenosine and its role in human cancer progression. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2014; 10 (7): 897–914. <https://doi.org/10.1586/1744666x.2014.915739>
- Chen J.-F., Eltzschig H. K., Fredholm B. B. Adenosine receptors as drug targets – what are the challenges? *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2013; 12 (4): 265–286. <https://doi.org/10.1038/nrd3955>
- Chrobak P., Charlebois R., Rejtar P., El Bikai R., Allard B., Stagg J. CD73 plays a protective role in collagen-induced arthritis. *The Journal of Immunology*. 2015; 194 (6): 2487–2492. <https://doi.org/10.1049/jimmunol.1401416>
- Deaglio S., Dwyer K. M., Gao W., Friedman D., Usheva A., Erat A., et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *Journal of Experimental Medicine*. 2007; 204 (6): 1257–1265. <https://doi.org/10.1084/jem.20062512>
- Dwyer K. M., Deaglio S., Gao W., Friedman D., Strom T. B., Robson S. C. CD39 and control of cellular immune responses. *Purinergic Signalling*. 2007; 3: 171–180. <https://doi.org/10.1007/s11302-006-9050-y>
- Титов В. Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2003; (12): 3–10. <https://elibrary.ru/ojctb>
- Choy E. H. S., Panayi G. S. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine*. 2001; 344 (12): 907–916. <https://doi.org/10.1056/nejm20010323441207>
- Данилов Л. Н., Лебедева Е. С., Двораковская И. В., Симбирцев А. С., Илькович М. М. Влияние рецепторного антагониста IL-1 на развитие оксидативного стресса в легких. *Цитокины и воспаление*. 2003; 2 (4): 14–20. <https://elibrary.ru/gxsgmp>
- Старикова Э. А., Амчиславский Е. И., Соколов Д. И., Фрейдлин И. С., Полоухина Е. Р., Барышников А. Ю. Изменения поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. *Медицинская иммунология*. 2003; 5 (1–2): 39–48. <https://elibrary.ru/jtymrn>
- Серебренникова С. Н., Семинский И. Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 1). *Сибирский медицинский журнал*. 2008; (6): 5–8. <https://elibrary.ru/jwbssl>
- Лысикова М., Вальд М., Масиновски З. Механизмы воспалительной реакции и воздействие на них с помощью протеолитических энзимов. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3 (3): 48–53. <https://elibrary.ru/hrrkot>
- Тотоян А. А. Роль хемокинов и их рецепторов в иммунорегуляции. *Иммунология*. 2001; 22 (5): 7–15.
- Шаимова В. А. Роль провоспалительных цитокинов при заболеваниях глаз. *Цитокины и воспаление*. 2005; 4 (2): 13–15. <https://elibrary.ru/hrlred>
- Jersmann H. P. A., Hii C. S. T., Ferrante J. V., Ferrante A. Bacterial lipopolysaccharide and tumor necrosis factor alpha synergistically increase expression of human endothelial adhesion molecules through activation of NF-κB and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Infection and Immunity*. 2001; 69 (3): 1273–1279. <https://doi.org/10.1128/iai.69.3.1273-1279.2001>
- Lum H., Roebuck K. A. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2001; 280 (4): C719–C741. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.280.4.c719>
- Старикова Э. А., Фрейдлин И. С., Соколов Д. И., Сельков С. А. Изменения свойств эндотелиальных клеток линии EA.hy 926 под влиянием фактора некроза опухоли α, интерферона и интерлейкина-4. *Иммунология*. 2005; 26 (2): 83–87. <https://elibrary.ru/hrwxyb>
- Белова О. В., Арион В. Я., Сергиенко В. И. Роль цитокинов в иммунологической функции кожи. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2008; (1): 41–55. <https://elibrary.ru/jvvrvv>
- Sarlos P., Kovacsdi E., Magyari L., Banfai Z., Szabo A., Javorhazy A., Meleg B. Genetic update on inflammatory factors in ulcerative colitis: Review of the current literature. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*. 2014; 5 (3): 304–321. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v5.i3.304>
- Васильева Г. И., Иванова И. А., Тюкавкина С. Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами. *Иммунология*. 2000; 21 (5): 11–17.
- Heydtmann M., Adams D. H. Chemokines in the immunopathogenesis of hepatitis C infection. *Hepatology*. 2009; 49 (2): 676–688. <https://doi.org/10.1002/hep.22763>
- Сысоев К. А., Чухловин А. Б., Тотоян А. А. Диагностическая роль определения хемокинов и их рецепторов при хроническом гепатите С. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; (2): 23–29. <https://elibrary.ru/pysuoij>
- Симбирцев А. С. Цитокины: классификация и биологические функции. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3 (2): 16–22. <https://elibrary.ru/hrrmzv>

35. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины: монография. СПб.: Фолиант; 2008. 552 с.
36. Иммунология: практикум. Под редакцией Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатевой, Л. В. Ганковской. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014. 174 с.
37. Tengvall S., Che K. F., Lindén A. Interleukin-26: an emerging player in host defense and inflammation. *Journal of Innate Immunity*. 2016; 8 (1): 15–22. <https://doi.org/10.1159/000434646>
38. Глотов А. В., Потуданская М. Г. Основы иммунологии, иммуногенетики и иммунобиотехнологии: Ч. 1. Общая иммунология: учебное пособие. Омск: ОмГУ; 2009. 119 с.
39. Рябов В. В., Гомбожапова А. Э., Роговская Ю. В., Иванюк Е. Э., Кжышкова Ю. Г., Карпов Р. С. Функциональная пластичность моноцитов/макрофагов в процессах восстановительной регенерации и постинфарктного ремоделирования сердца. *Иммунология*. 2016; 37 (6): 305–311. <https://elibrary.ru/xipgjd>
40. Потапнев М. П. Иммунные механизмы стерильного воспаления. *Иммунология*. 2015; 36 (5): 312–318. <https://elibrary.ru/umtev>
41. Нестерова И. В., Балмасова И. П., Козлов В. А., Малова Е. С., Сепиашвили Р. И. Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции у лиц с рецидивирующими вирусными инфекциями: клиничко-иммунологические черты и особенности серотонинергической регуляции. *Цитокины и воспаление*. 2006; 5 (2): 3–14. <https://elibrary.ru/tfvgu>
42. Юрлова К. А., Хазиахматова О. Г., Малащенко В. В., Норкин И. К., Иванов П. А., Хлусов И. А. и др. Клеточно-молекулярные аспекты воспаления, ангиогенеза и остеогенеза. Краткий обзор. *Цитология*. 2020; 62 (5): 305–315. <https://doi.org/10.31857/S0041377120050090>
43. Зубова С. Г., Быкова Т. В. Регуляция mTOR-сигнального пути в макрофагах при различных патологиях. *Цитология*. 2015; 57 (11): 755–760. <https://elibrary.ru/uteazl>
44. Чеснокова Н. П., Моррисон В. В., Бизенкова М. Н., Полутова Н. В. Лекция 9. Воспаление – как типовой патологический процесс, лежащий в основе развития различных нозологических форм патологии. *Научное обозрение. Реферативный журнал*. 2018; (1): 124–128. <https://abstract.science-review.ru/article/view?id=1877>
45. Ярилин Д. А. Роль фактора некроза опухолей в регуляции воспалительного ответа моноцитов и макрофагов. *Иммунология*. 2014; 36 (4): 195–201. <https://elibrary.ru/sjzplv>
46. Доница Ж. А., Баранова Е. В., Александрова Н. П. Сравнительная оценка влияния основных медиаторов острофазового ответа (ИЛ-1, ФНО- α и ИЛ-6) на паттерн дыхания и выживаемость крыс при острой нарастающей гипоксии. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. 2021; 107 (8): 996–1006. <https://doi.org/10.31857/S0869813921080045>
47. Литвицкий П. Ф. Воспаление. *Вопросы современной педиатрии*. 2006; 5 (4): 75–81. <https://elibrary.ru/hyvrn>
48. Chen J., Zhao Y., Liu Y. The role of nucleotides and purinergic signaling in apoptotic cell clearance – implications for chronic inflammatory diseases. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5:656. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00656>
49. Ешумов С. Н., Ситников И. Г., Мельникова И. М. Цитокины ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-8 и их роль в иммунном ответе при инфекционном поражении ЦНС у детей. *Детские инфекции*. 2018; 17 (1): 17–22. <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2018-17-1-17-22>
50. Кренев И. А., Берлов М. Н., Умнякова Е. С. Антимикробные белки и пептиды нейтрофильных гранулоцитов как модуляторы системы комплемента. *Иммунология*. 2021; 42 (4): 426–433. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-4-426-433>
51. Белокрыницкая Т. Е., Витковский Ю. А., Пономарева Ю. Н., Мочалова М. Н., Ломнева Г. М. Фактор некроза опухоли α и трансформирующий фактор роста β в регуляции апоптоза и пролиферации клеток при дисплазии и раке шейки матки. *Цитокины и воспаление*. 2006; 5 (1): 31–33. <https://elibrary.ru/tfvglh>
52. Железникова Г. Ф. Роль цитокинов в патогенезе и диагностике инфекционных заболеваний. *Инфекционные болезни*. 2008; 6 (3): 70–76. <https://elibrary.ru/juigfv>
53. Сибиряк С. В. Цитокины как регуляторы цитохром P450-зависимых монооксигеназ. Теоретические и прикладные аспекты. *Цитокины и воспаление*. 2003; 2 (2): 12–22. <https://elibrary.ru/hrrjut>
54. Бережная Н. М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы. *Цитокины и воспаление*. 2007; 6 (2): 26–34. <https://elibrary.ru/rzmyrj>
55. Васильева Г. И., Иванова И. А., Тюкавкина С. Ю. Цитокины – общая система гомеостатической регуляции клеточных функций. *Цитология*. 2001; 43 (12): 1101–1111. <https://elibrary.ru/cvdbkn>
56. Surprenant A., North R. A. Signaling at purinergic P2X receptors. *Annual Review of Physiology*. 2009; 71: 333–359. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100630>
57. Kaniowska E., Sielicka A., Sarathchandra P., Pelikant-Malecka I., Olkowicz M., Słomińska E. M., et al. Immunohistochemical and functional analysis of ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1 (CD39) and ecto-5'-nucleotidase (CD73) in pig aortic valves. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*. 2014; 33 (4–6): 305–312. <https://doi.org/10.1080/15257770.2014.885985>
58. Orriss I., Syberg S., Wang N., Robaye B., Gartland A., Jorgensen N., Arnett T., Boeynaems J. M. Bone phenotypes of P2 receptor knockout mice. *Frontiers in Bioscience-Scholar*. 2011; 3 (3): 1038–1046. <https://doi.org/10.2741/208>
59. Ledderose C., Bao Y., Kondo Y., Fakhari M., Słubowski C., Zhang J., Junger W. G. Purinergic signaling and the immune response in sepsis: a review. *Clinical Therapeutics*. 2016; 38 (5): 1054–1065. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.04.002>
60. Ledderose C., Bao Y., Ledderose S., Woehle T., Heinisch M., Yip L., et al. Mitochondrial dysfunction, depleted purinergic signaling, and defective T cell vigilance and immune defense. *The Journal of Infectious Diseases*. 2016; 213 (3): 456–464. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv373>
61. Colgan S. P., Eltzschig H. K., Eckle T., Thompson L. F. Physiological roles for ecto-5'-nucleotidase (CD73). *Purinergic Signalling*. 2006; 2: 351–360. <https://doi.org/10.1007/s11302-005-5302-5>
62. Bynoe M. S., Waickman A. T., Mahamed D. A., Mueller C., Mills J. H., Czopik A. CD73 is critical for the resolution of murine colonic inflammation. *BioMed Research International*. 2012; 2012:260983. <https://doi.org/10.1155/2012/260983>
63. Muller-Haegeler S., Muller L., Whiteside T. L. Immunoregulatory activity of adenosine and its role in human cancer progression. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2014; 10 (7): 897–914. <https://doi.org/10.1586/1744666x.2014.915739>
64. Chen J.-F., Eltzschig H. K., Fredholm B. B. Adenosine receptors as drug targets – what are the challenges? *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2013; 12 (4): 265–286. <https://doi.org/10.1038/nrd3955>
65. Chrobak P., Charlebois R., Rejtar P., El Bikai R., Allard B., Stagg J. CD73 plays a protective role in collagen-induced arthritis. *The Journal of Immunology*. 2015; 194 (6): 2487–2492. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401416>
66. Deaglio S., Dwyer K. M., Gao W., Friedman D., Usheva A., Erat A., et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *Journal of Experimental Medicine*. 2007; 204 (6): 1257–1265. <https://doi.org/10.1084/jem.20062512>
67. Dwyer K. M., Deaglio S., Gao W., Friedman D., Strom T. B., Robson S. C. CD39 and control of cellular immune responses. *Purinergic Signalling*. 2007; 3: 171–180. <https://doi.org/10.1007/s11302-006-9050-y>
68. Titov V. N. The significance of macrophages in the onset of inflammation; the effects of interleukin-1, interleukin-6 and the activity of hypothalamohypophysis system (a survey). *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2003; (12): 3–10. <https://elibrary.ru/ojctb> (in Russ.)
69. Choy E. H. S., Panayi G. S. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine*. 2001; 344 (12): 907–916. <https://doi.org/10.1056/nejm200103223441207>
70. Danilov L. N., Lebedeva E. S., Dvorakovskaya I. V., Simbirtsev A. S., Ilcovich M. M. Effect of interleukin 1 receptor antagonist on the development of oxidative stress in lungs. *Cytokines and Inflammation*. 2003; 2 (4): 14–20. <https://elibrary.ru/gxsgmp> (in Russ.)
71. Starikova E. A., Amtchislavsky E. I., Sokolov D. I., Freidlin I. S., Polosukhina E. R., Baryshnikov A. Yu. Deviations of endothelial cells surface phenotype under the influence of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *Medical Immunology (Russia)*. 2003; 5 (1–2): 39–48. <https://elibrary.ru/jtymn> (in Russ.)
72. Serebrennikova S. N., Seminsky I. Zh. The role of cytokines in the inflammatory process (part 1). *Sibirskii meditsinskii zhurnal*. 2008; (6): 5–8. <https://elibrary.ru/jwbssl> (in Russ.)
73. Lysikova M., Wald M., Masinovsky Z. Mechanisms of inflammatory reaction and proteolytic enzymes influence upon them. *Cytokines and Inflammation*. 2004; 3 (3): 48–53. <https://elibrary.ru/hrrkot> (in Russ.)
74. Totolyan A. A. Rol' khemokinov i ikh retseptorov v immunoregulyatsii = The role of chemokines and their receptors in immunoregulation. *Immunologiya*. 2001; 22 (5): 7–15. (in Russ.)
75. Shaimova V. A. The role of inflammatory cytokines in eye diseases. *Cytokines and Inflammation*. 2005; 4 (2): 13–15. <https://elibrary.ru/hrrled> (in Russ.)
76. Jersmann H. P. A., Hii C. S. T., Ferrante J. V., Ferrante A. Bacterial lipopolysaccharide and tumor necrosis factor alpha synergistically increase expression of human endothelial adhesion molecules through activation of NF- κ B and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Infection and Immunity*. 2001; 69 (3): 1273–1279. <https://doi.org/10.1128/iai.69.3.1273-1279.2001>
77. Lum H., Roebuck K. A. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2001; 280 (4): C719–C741. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.280.4.c719>
78. Starikova E. A., Freidlin I. S., Sokolov D. I., Selkov S. A. Changes of properties of endothelial cells, line EA.hy 926, caused by TNF α , IFN γ and IL-4. *Immunologiya*. 2005; 26 (2): 83–87. <https://elibrary.ru/hrwxyb> (in Russ.)
79. Belova O. V., Arion V. Y., Sergienko V. I. Role of cytokines in immunological function of the skin. *Immunopathology, allergology, infectology*. 2008; (1): 41–55. <https://elibrary.ru/jvvrav> (in Russ.)
80. Sarlos P., Kovendi E., Magyar L., Banfai Z., Szabo A., Javorhazy A., Melegh B. Genetic update on inflammatory factors in ulcerative colitis: Review of the current literature. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*. 2014; 5 (3): 304–321. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v5.i3.304>
81. Vasileva G. I., Ivanova I. A., Tyukavkina S. Yu. Kooperativnoe vzaimodeistvie mono- i polinuklearnikh fagotsitov, oposredovannoe mono- i neutrofiloklinami = Cooperative interaction of mono- and polynuclear phagocytes mediated by mono- and neutrophilokines. *Immunologiya*. 2000; 21 (5): 11–17. (in Russ.)

REFERENCES

1. Golovkin A. S., Asadullina I. A., Kudryavtsev I. V. Purinergic regulation of basic physiological and pathological processes. *Medical Immunology (Russia)*. 2018; 20 (4): 463–476. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-4-463-476> (in Russ.)
2. Coutinho-Silva R., Knight G. E., Burnstock G. Impairment of the splenic immune system in P2X $_2$ knockout mice. *Immunobiology*. 2005; 209 (9): 661–668. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2004.09.007>
3. Eltzschig H. K., Sitkovsky M. V., Robson S. C. Purinergic signaling during inflammation. *New England Journal of Medicine*. 2012; 367 (24): 2322–2333. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1205750>
4. Lazarowski E. R. Vesicular and conductive mechanisms of nucleotide release. *Purinergic Signalling*. 2012; 8 (3): 359–373. <https://doi.org/10.1007/s11302-012-9304-9>
5. Faas M. M., Sáez T., de Vos P. Extracellular ATP and adenosine: The Yin and Yang in immune responses? *Molecular Aspects of Medicine*. 2017; 55: 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.01.002>

32. Heydtmann M., Adams D. H. Chemokines in the immunopathogenesis of hepatitis C infection. *Hepatology*. 2009; 49 (2): 676–688. <https://doi.org/10.1002/hep.22763>
33. Sysoyev K. A., Tchkukhlov A. B., Totolyan A. A. The diagnostic role of chemokines and their receptors under chronic hepatitis C. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2013; (2): 23–29. <https://elibrary.ru/pycuoj> (in Russ.)
34. Simbirtsev A. S. Cytokines – classification and biologic functions. *Cytokines and Inflammation*. 2004; 3 (2): 16–22. <https://www.elibrary.ru/hrmzv> (in Russ.)
35. Ketlinskiy S. A., Simbirtsev A. S. Cytokines: monograph. Saint Petersburg: Foliant; 2008. 552 p. (in Russ.)
36. Immunology: practicum. Ed. by L. V. Kovalchuk, G. A. Ignatieva, L. V. Gankovskaya. Moscow: GEOTAR-Media; 2014. 174 p. (in Russ.)
37. Tengvall S., Che K. F., Lindén A. Interleukin-26: an emerging player in host defense and inflammation. *Journal of Innate Immunity*. 2016; 8 (1): 15–22. <https://doi.org/10.1159/000434646>
38. Glotov A. V., Potudanskaya M. G. Fundamentals of immunology, immunogenetics and immunobiotechnology: Part 1. General immunology: a textbook. Omsk: Omsk State University; 2009. 119 p. (in Russ.)
39. Ryabov V. V., Gomboshapova A. E., Rogovskaya Yu. V., Ivanyuk E. E., Kzhyshkowska J. G., Karpov R. S. Functional plasticity of monocytes/macrophages in post-infarction cardiac regeneration and remodeling. *Immunologiya*. 2016; 37 (6): 305–311. <https://elibrary.ru/xipgid> (in Russ.)
40. Potapnev M. P. Immune mechanisms of sterile inflammation. *Immunologiya*. 2015; 36 (5): 312–318. <https://elibrary.ru/umtev> (in Russ.)
41. Nesterova I. V., Balmasova I. P., Kozlov V. A., Malova E. S., Sepiashvili R. I. Chronic fatigue syndrome and immune dysfunction in patients with recurrent viral infections: clinical immunologic characteristic and features of serotonin regulation. *Cytokines and Inflammation*. 2006; 5 (2): 3–14. <https://elibrary.ru/tfvugx> (in Russ.)
42. Yurova K. A., Khaziakhmatova O. G., Malashchenko V. V., Norkin I. K., Ivanov P. A., Khlusov I. A., et al. Cellular-molecular aspects of inflammation, angiogenesis and osteogenesis. A short review. *Tsitologiya*. 2020; 62 (5): 305–315. <https://doi.org/10.31857/S0041377120050090> (in Russ.)
43. Zubova S. G., Bykova T. V. Regulation of the mTOR signaling pathway in macrophages in various pathologies. *Tsitologiya*. 2015; 57 (11): 755–760. <https://elibrary.ru/uteazl> (in Russ.)
44. Chesnokova N. P., Morrison V. V., Bizenkova M. N., Polutova N. V., Lektsiya 9. Vospalenie – kak tipovoy patologicheskii protsess, lezhashchii v osnove razvitiya razlichnykh nozologicheskikh form patologii = Lecture 9. Inflammation is a typical pathological process underlying the development of various nosological forms of pathology. *Scientific Review. Abstract Journal*. 2018; (1): 124–128. <https://abstract.science-review.ru/article/view?id=1877> (in Russ.)
45. Yarin D. A. Role of tumor necrosis factor in the regulation of the inflammatory response of monocytes and macrophages. *Immunologiya*. 2014; 36 (4): 195–201. <https://elibrary.ru/sjzplv> (in Russ.)
46. Donina Zh. A., Baranova E. V., Aleksandrova N. P. A comparative assessment of effects of major mediators of acute phase response (IL-1, TNF- α , IL-6) on breathing pattern and survival rate in rats with acute progressive hypoxia. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2021; 57 (4): 936–944. <https://doi.org/10.1134/S0022093021040177>
47. Litvitsky P. F. Inflammation. *Current Pediatrics*. 2006; 5 (4): 75–81. <https://elibrary.ru/hyvrn> (in Russ.)
48. Chen J., Zhao Y., Liu Y. The role of nucleotides and purinergic signaling in apoptotic cell clearance – implications for chronic inflammatory diseases. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5:656. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00656>
49. Eshmolov S. N., Sitnikov I. G., Melnikova I. M. The role of cytokines TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-4, IL-8 in the immune response in infectious lesions of CNS in children. *Children Infectious*. 2018; 17 (1): 17–22. <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2018-17-1-17-22> (in Russ.)
50. Krenev I. A., Berlov M. N., Umnyakova E. S. Antimicrobial proteins and peptides of neutrophilic granulocytes as modulators of complement system. *Immunologiya*. 2021; 42 (4): 426–433. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-4-426-433> (in Russ.)
51. Belokrinitskaya T. Ye., Vitkovsky Yu. A., Ponomaryova Yu. N., Mochalova M. N., Lomneva G. M. TNF α and TGF β in regulation of apoptosis and cell proliferation in cervical intra-epithelial neoplasia and carcinoma of uterine cervix. *Cytokines and Inflammation*. 2006; 5 (1): 31–33. <https://elibrary.ru/tfvglh> (in Russ.)
52. Zhelezniukova G. F. The role of cytokines in pathogenesis and diagnosing of infectious diseases. *Infektsionnye Bolezni (Infectious Diseases)*. 2008; 6 (3): 70–76. <https://elibrary.ru/juigfv> (in Russ.)
53. Sibiryak S. V. Cytokines as cytochrome P450-dependent monooxygenases regulators. Theoretical and applied aspects. *Cytokines and Inflammation*. 2003; 2 (2): 12–22. <https://elibrary.ru/hrrjut> (in Russ.)
54. Berezhnaya N. M. Cytokine network regulation in pathology: rapid progress in knowledge and inevitable questions. *Cytokines and Inflammation*. 2007; 6 (2): 26–34. <https://elibrary.ru/rzmyrj> (in Russ.)
55. Vasileva G. I., Ivanova I. A., Tyukavkina S. Yu. Tsitokiny – obshchaya sistema gomeostaticheskoi regulatsii kletochnykh funktsii = Cytokines – a general system of homeostatic regulation of cell functions. *Tsitologiya*. 2001; 43 (12): 1101–1111. <https://elibrary.ru/cvdbkn> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 30.04.2025

Поступила после рецензирования / Revised 27.05.2025

Принята к публикации / Accepted 01.07.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мосягин Владимир Владимирович, д-р биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБНУ «Курский ФАНЦ», г. Курск, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6970-395X>, ugnoe_nebo@list.ru

Исакова Елизавета Андреевна, аспирант, инженер-исследователь лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБНУ «Курский ФАНЦ»; преподаватель Курского ГАУ, г. Курск, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-2605-5283>, fominaelizabetha.fomina2016@yandex.ru

Рыжкова Галина Федоровна, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и химии имени профессора А. А. Сысоева, Курский ГАУ, г. Курск, Россия; <https://orcid.org/0009-0008-3087-5525>, rigkova_galina49@mail.ru

Мосягина Ирина Павловна, аспирант, преподаватель Курского ГАУ, г. Курск, Россия; <https://orcid.org/0009-0007-5925-0767>, ip_mosyagina@mail.ru

Vladimir V. Mosyagin, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Veterinary Medicine and Biotechnology, Federal Agricultural Kursk Research Center, Kursk, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6970-395X>, ugnoe_nebo@list.ru

Elizaveta A. Isakova, Postgraduate Student, Research Engineer, Laboratory of Veterinary Medicine and Biotechnology, Federal Agricultural Kursk Research Center; Lecturer, Kursk State Agrarian University named after I. I. Ivanov, Kursk, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-2605-5283>, fominaelizabetha.fomina2016@yandex.ru

Galina F. Ryzhkova, Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of Department of Physiology and Chemistry named after Professor A. A. Sysoev, Kursk State Agrarian University named after I. I. Ivanov, Kursk, Russia; <https://orcid.org/0009-0008-3087-5525>, rigkova_galina49@mail.ru

Irina P. Mosyagina, Postgraduate Student, Lecturer, Kursk State Agrarian University named after I. I. Ivanov, Kursk, Russia; <https://orcid.org/0009-0007-5925-0767>, ip_mosyagina@mail.ru

Вклад авторов: Мосягин В. В. – разработка концепции, проведение исследования, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; Исакова Е. А. – разработка концепции, проведение исследования, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; Рыжкова Г. Ф. – разработка концепции, проведение исследования, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; Мосягина И. П. – разработка концепции, проведение исследования, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

Contribution of the authors: Mosyagin V. V. – conceptualization, conducting a research, text preparation and editing, approval of the final version of the article; Isakova E. A. – conceptualization, conducting a research, text preparation and editing, approval of the final version of the article; Ryzhkova G. F. – conceptualization, conducting a research, text preparation and editing, approval of the final version of the article; Mosyagina I. P. – conceptualization, research conducting, text preparation and editing, approval of the final version of the article.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-274-282>
УДК 619:579.887.111:616-076:577.2



Валидация и применение тест-системы на основе метода ПЦР в режиме реального времени для выявления ДНК *Mycoplasma dispar*

М. Абед Алхуссен, О. Е. Федорова, А. О. Кротова, О. П. Бьядовская, А. В. Спрыгин

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. В настоящее время наблюдается широкое распространение и активная циркуляция *Mycoplasma dispar* в животноводческих хозяйствах по всему миру, в том числе и в Российской Федерации. Актуальность внедрения в ветеринарную практику тест-системы на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для выявления ДНК *Mycoplasma dispar* обусловлена важной ролью данного возбудителя в развитии комплекса респираторных болезней крупного рогатого скота, приводящих к значительным экономическим потерям в животноводстве, в том числе являющихся причиной падежа телят.

Цель исследования. Определение основных валидационных характеристик и внедрение в ветеринарную практику разработанной тест-системы для выявления ДНК *Mycoplasma dispar* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Материалы и методы. Референтный штамм *Mycoplasma dispar* (ATCC № 27140) культивировали на питательной среде 1699 Revised Mycoplasma Medium, рекомендованной American Type Culture Collection. ДНК выделяли с использованием коммерческого набора, постановка ПЦР в режиме реального времени осуществлялась по заранее подобранным параметрам. Были определены основные валидационные характеристики тест-системы: аналитическая чувствительность, аналитическая специфичность, эффективность амплификации, повторяемость и воспроизводимость. Показана возможность практического применения тест-системы на основе ПЦР в режиме реального времени для выявления ДНК *Mycoplasma dispar*.

Результаты. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) тест-системы по выявлению ДНК *Mycoplasma dispar* составила 10 копий ДНК/мкл (или 100 копий ДНК/реакцию), специфичность – 100% (детектирует только ДНК *Mycoplasma dispar*), эффективность амплификации – 99,01%, среднее значение коэффициента вариации при оценке повторяемости – 0,91%, воспроизводимости – 0,66–1,26% в рамках 5 повторений и 0,91% в рамках 15 повторений. Апробацию тест-системы проводили на 228 пробах биоматериала, отобранных от крупного рогатого скота из 13 регионов Российской Федерации, при этом ДНК *Mycoplasma dispar* была обнаружена в 39,47% исследуемых проб.

Заключение. Разработанная тест-система для выявления ДНК *Mycoplasma dispar* продемонстрировала высокие валидационные показатели и может быть использована в диагностике микоплазмоза крупного рогатого скота.

Ключевые слова: *Mycoplasma dispar*, тест-система, ПЦР-РВ, внутренний контрольный образец, чувствительность, специфичность, эффективность амплификации

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Абед Алхуссен М., Федорова О. Е., Кротова А. О., Бьядовская О. П., Спрыгин А. В. Валидация и применение тест-системы на основе метода ПЦР в режиме реального времени для выявления ДНК *Mycoplasma dispar*. Ветеринария сегодня. 2025; 14 (3): 274–282. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-274-282>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Абед Алхуссен Мохаммад, канд. вет. наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, alhussenmohammed85@hotmail.com

Validation and application of qPCR test kit for detection of *Mycoplasma dispar* DNA

Mohammad Abed Alhussen, Olga E. Fedorova, Alena O. Krotova, Olga P. Byadovskaya, Alexander V. Sprygin

Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Introduction. Currently, *Mycoplasma dispar* is widely spread and circulating in livestock farms around the world, including in the Russian Federation. The implementation of a real-time polymerase chain reaction test kit for detecting *Mycoplasma dispar* DNA in veterinary practice is highly relevant, as this pathogen can cause respiratory diseases in cattle and contribute to calf mortality, leading to significant economic losses in livestock production.

Objective. To introduce a newly developed real-time polymerase chain reaction test kit *Mycoplasma dispar* DNA detection kit into veterinary practice and determine its major validation parameters.

Materials and methods. *Mycoplasma dispar* reference strain (ATCC No. 27140) was cultured in 1699 Revised Mycoplasma Medium recommended by the American Type Culture Collection. DNA was extracted using a commercial kit, real-time polymerase chain reaction was performed using pre-selected parameters. The major validation parameters of the test kit were determined: analytical sensitivity, analytical specificity, amplification efficiency, repeatability and reproducibility. Applicability of real-time polymerase chain reaction test kit for detection of *Mycoplasma dispar* DNA was demonstrated.

© Абед Алхуссен М., Федорова О. Е., Кротова А. О., Бьядовская О. П., Спрыгин А. В., 2025

Results. The *Mycoplasma dispar* DNA detection test kit demonstrated an analytical sensitivity (detection limit) of 10 copies/μL (100 copies/reaction), 100% specificity (exclusive to *Mycoplasma dispar* DNA), 99.01% amplification efficiency, and an average repeatability coefficient of variation of 0.91%. Reproducibility coefficient of variation ranged from 0.66% to 1.26% across 5 replicates and was 0.91% across 15 replicates. The test kit was validated using 228 biological samples from cattle from 13 regions of the Russian Federation, while *Mycoplasma dispar* DNA was detected in 39.47% of the samples tested.

Conclusion. The developed *Mycoplasma dispar* DNA test kit has demonstrated high validation performance and is suitable for diagnosing bovine mycoplasmosis.

Keywords: *Mycoplasma dispar*, test kit, qPCR, internal control, sensitivity, specificity, amplification efficiency

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health within the research topic "Veterinary Welfare".

For citation: Abed Alhussen M., Fedorova O. E., Krotova A. O., Byadovskaya O. P., Sprygin A. V. Validation and application of qPCR test kit for detection of *Mycoplasma dispar* DNA. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 274–282. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-274-282>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Mohammad Abed Alhussen, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, alhussenmohammed85@hotmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Mycoplasma dispar является одним из возбудителей респираторных заболеваний крупного рогатого скота (КРС), в том числе телят, и имеет повсеместное распространение. Болезнь, вызванная *M. dispar*, характеризуется воспалением слизистых оболочек верхних дыхательных путей и поражением легких, что приводит к значительным убыткам в животноводстве [1, 2, 3].

Данный вид микроорганизмов относится к роду *Mycoplasma*, классу *Mollicutes*, характеризуется отсутствием клеточной стенки, плеоморфизмом, небольшим для бактерий размером генома (803 т. п. н.) с низким соотношением G + C (28,5–29,3 моль%) [4, 5].

Культивирование *M. dispar* требует специальной питательной среды для роста, микроорганизм не образует типичных для микоплазм колоний в виде «яичницы-глазуньи». Кроме того, *M. dispar* не всегда ингибируется гипериммунной сывороткой, что затрудняет традиционную идентификацию на ранних стадиях [5]. *M. dispar* ферментирует глюкозу и восстанавливает соли тетразолия в аэробных и анаэробных условиях, но не гидролизует аргинин, не катаболизирует сыворотку и не обладает фосфатазной активностью [6, 7, 8]. *M. dispar* имеет внешнюю капсулу, состоящую из полисахарида, идентифицированного как полимер галактуроновой кислоты [9]. Эта капсула образуется во время инфицирования клеток млекопитающих-хозяев и может оказывать ингибирующее действие на активность бычьих альвеолярных макрофагов, предотвращая их активацию [10].

Сообщалось, что для уничтожения микоплазмы альвеолярными макрофагами необходимо наличие анти-тел против капсульного полисахарида [9].

Впервые *M. dispar* была выделена и идентифицирована в Англии в 1969 г. от телят с пневмонией. Затем данный вид микоплазм обнаружили в Дании, Бельгии, Голландии, Франции, Австралии, США, Канаде, Корее и Японии [8]. В Европе сообщения о выявлении возбудителя поступали из Великобритании, также инфекция, вызванная *M. dispar*, была зарегистрирована в Бразилии и Италии [11, 12, 13, 14, 15]. В Российской Федерации при исследовании 1186 проб биоматериала, полученных от КРС с клиническими признаками респираторной и/или репродуктивной патологии из 34 различных регионов в период с 2015 по 2018 г., методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле ДНК *M. dispar* была обнаружена в 37,15% проб [16].

Передается *M. dispar* от инфицированных животных к здоровым в основном через дыхательные секреты, выявляется в дыхательных путях как здоровых, так и больных пневмонией телят [3]. При неблагоприятных условиях микоплазмы самостоятельно или в комбинации с другими инфекционными агентами могут вызывать серьезные респираторные заболевания, тем самым причиняя экономический ущерб крупным животноводческим хозяйствам с высокой концентрацией животных [17, 18]. При обследовании поголовья КРС в Нидерландах *M. dispar* была выделена из 92% проб легких телят с пневмонией и из 40% проб легких здоровых телят [7, 19]. В Дании при исследовании легких телят с признаками фибринозно-некротизирующей, гнойной бронхопневмонии и эмболической пневмонии *M. dispar* выявляли в 50% случаев [20]. Одновременно с микоплазмами обнаруживались и другие бактерии, такие как *Histophilus somni*, *Pasteurella multocida*, *Arcanobacterium pyogenes* и *Mannheimia haemolytica*. В Великобритании *M. dispar* часто выявляют у телят с пневмонией, считается, что она является причиной тяжелой плевропневмонии, сходной с контагиозной плевропневмонией КРС, включенной в список Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЖ) и подлежащей обязательной нотификации [21].

Детальные исследования определили точную роль *M. dispar* в развитии комплекса респираторных заболеваний КРС, который является хронической болезнью, поражающей молочных телят и мясной скот на откормочных площадках. В результате было установлено, что в животноводческой отрасли США производственные потери, расходы на лечение и профилактику данного заболевания составляют более 4 млрд долларов [21].

Телятам с комплексом респираторных заболеваний обычно назначают антимикробные препараты, в то время как некоторые из них неэффективны против микоплазм [22]. Следовательно, существует значительная опасность возникновения резистентности к такого рода лекарственным средствам, что отмечается и при лечении респираторных инфекций, вызванных другими бактериальными патогенами [23].

Механизмы патогенности *M. dispar* достаточно изучены, они включают в себя способность вырабатывать перекись водорода и формировать биопленки – оба известных фактора вирулентности. Также было отмечено, что данный вид микоплазм колонизирует эпителий слизистой оболочки дыхательных путей, оказывая

цитостатическое и даже цитопатическое действие на клетки дистальных бронхов и бронхиол и приводя к нарушению трахеобронхиального клиренса [9, 21, 24]. Кроме того, было показано, что *M. dispar* оказывает иммуносупрессивное действие на организм хозяина [25]. В связи с этим данный вид микоплазм был включен вместе с *Mycoplasma bovis* в число возбудителей, вызывающих или усугубляющих комплекс респираторных заболеваний [8, 21]. *M. dispar* является причиной экссудативного бронхита и пневмонии у телят, передача инфекции происходит в основном воздушно-капельным путем и при тесном многократном контакте [26].

Mycoplasma dispar вызывает образование уплотнений пурпурно-красного цвета, в основном в крапивоventральных областях легкого [27]. При экспериментальном заражении телят *M. dispar* развивались умеренный субклинический бронхиолит с лимфоидной инфильтрацией и легкая пневмония [10]; иногда отмечались случаи мастита [28]. Другие авторы сообщают, что *M. dispar* вызывает альвеолит, при котором нейтрофилы, макрофаги и экссудат накапливаются в альвеолярных стенках и пространствах [26, 29]. При полевых случаях субклинической пневмонии, когда из проб биоматериала была выделена *M. dispar*, регистрировали сходные поражения [30].

Объем генетической информации по *M. dispar* в открытых базах данных ограничен. Полногеномная последовательность референтного штамма *M. dispar* ATCC № 27140 была внесена в GenBank в 2015 г. На основе филогенетического анализа последовательности гена 16S рРНК *M. dispar* сгруппирована вместе с *M. ovipneumoniae*, *M. flocculare* и *M. hyopneumoniae*, выделяемыми от овец и коз [31].

Борьба с микоплазмозом должна включать меры по снижению стресса, обусловленного условиями окружающей среды, и обеспечению надлежащего содержания животных в помещениях с хорошей циркуляцией воздуха. Необходимо проводить мероприятия, направленные на предотвращение заражения телят от взрослых животных [8].

Одним из ключевых компонентов борьбы с микоплазмозами КРС является своевременная диагностика. Лабораторное подтверждение заболевания, вызванного *M. dispar*, играет важную роль, в связи с глобальным распространением патогена, что оказывает значительное влияние на благополучие животноводческой отрасли [18, 32, 33, 34].

Классическим способом идентификации микоплазм КРС является их выделение на питательных средах, что имеет приоритетное значение, так как в этом случае можно получить наиболее полную информацию о культурально-морфологических и биологических свойствах возбудителя. Кроме того, у данного метода имеется дополнительное преимущество, заключающееся в возможности создания банка клинических изолятов, которые в дальнейшем можно использовать при разработке и совершенствовании стратегий профилактики, контроля и искоренения микоплазмозов, а также для выявления резистентности микоплазм к антибактериальным препаратам [8, 18, 33, 34]. Но следует также отметить, что данный способ трудоемок и требует 7–10 дней для постановки диагноза [3, 18, 34].

Серологические тесты на выявление антител к *M. dispar* широко не распространены, хотя в прошлом сообщалось о применении реакции радиального гемолиза,

иммуноферментного анализа [35] и пассивной гемагглютинации [36, 37]. Авторами описано, что наличие антител к *M. dispar* у КРС слабо выражено, поскольку данный вид микоплазм обитает только на поверхности легких, однако это может быть связано с низкой чувствительностью используемого серологического анализа, а не с недостаточностью гуморального ответа организма животного [35].

Использование ПЦР значительно облегчило выявление микоплазм, хотя только в 2004 г. было сообщено о ПЦР, специфичной для выявления генома *M. dispar* [38]. В данной реакции применялись специфические и универсальные олигонуклеотиды для обнаружения единичных полиморфизмов в 16S рРНК последовательности. В то же время был описан метод ПЦР/ДГГЭ (денатурирующий градиентный гель-электрофорез), который позволяет выявлять и идентифицировать более 70 различных микоплазм, включая *M. dispar* [39, 40].

В современных условиях оперативность диагностики может быть достигнута за счет применения ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ), которая обеспечивает быструю и точную идентификацию специфических локусов генома микоплазм в пробах биологического материала [18, 32, 34, 41].

Использование флуоресцентных (TaqMan) зондов, которые распознают конкретную последовательность-мишень в межпраймерном сегменте, позволяет достичь высокой специфичности исследования. В отличие от традиционных методов ПЦР, метод в реальном времени не требует дополнительных операций с образцом после амплификации, что снижает риск контаминации и приводит к сокращению времени проведения анализа и увеличению пропускной способности.

Включение в состав тест-систем ПЦР-РВ внутреннего контрольного образца (ВКО) позволяет с высокой степенью достоверности интерпретировать полученные данные и исключить ложноотрицательные результаты из-за наличия в пробе ингибиторов ПЦР [42]. Таким образом, актуальной задачей для производителей современных тест-систем на основе ПЦР-РВ является использование ВКО, который позволяет контролировать как этап выделения нуклеиновой кислоты, так и этап амплификации [43, 44, 45, 46].

Также стоит отметить, что в соответствии с требованиями ВОЗ в каждый ПЦР-тест рекомендуется включать ВКО для контроля качества [47].

Наличие инструментов молекулярной идентификации геномов микоплазм, в том числе *M. dispar*, позволяет не только отслеживать эпизоотическую ситуацию в отечественных хозяйствах, но и осуществлять контроль как при ввозе животных, так и при использовании их в производственных целях [34, 48].

На сегодняшний день в Российской Федерации отсутствуют коммерчески доступные тест-системы ПЦР-РВ отечественного производства, выявляющие ДНК *M. dispar*, в связи с чем разработка и внедрение в ветеринарную практику специфичной диагностической тест-системы на основе ПЦР-РВ является актуальной задачей [34].

Целью данной работы являлось определение основных валидационных характеристик и внедрение в ветеринарную практику разработанной в ФГБУ «ВНИИЗЖ» тест-системы для выявления ДНК *M. dispar* методом ПЦР-РВ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Бактерии и вирусы. В работе использовали референтный штамм *M. dispar* (ATCC № 27140), полученный из коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ», а также пробы биологического материала, отобранные от КРС различных возрастных групп (стабилизированная кровь; назальные и трахеальные смывы; кусочки легких, трахеи и лимфатических узлов; плевральная жидкость).

Для оценки аналитической специфичности разработанной тест-системы были использованы штаммы бактерий: *M. bovis* ATCC № 25523, *M. bovis* ATCC № 19852, *M. bovis* «Калуга 2020», ДНК *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (MmmSC) Madugri-8 (ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», Россия), *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (MmmSC) «Т1/44/ВНИИЗЖ», а также другие бактериальные и вирусные агенты, способные вызвать аналогичную патологию у КРС: *Escherichia coli* «ЕС-21», *Mannheimia haemolytica* «№ 1412», *Pasteurella multocida* «№ 1414», изолят *M. bovis*, вирус парагриппа-3 КРС «ВГНКИ-4», респираторно-синцитиальный вирус КРС «Вологда/2020», вирус вирусной диареи КРС «NADL-ВНИИЗЖ».

Культивирование *M. dispar*. Референтный штамм *M. dispar* (ATCC № 27140) культивировали на рекомендованной American Type Culture Collection питательной среде 1699 Revised Mycoplasma Medium, состоящей из бульона с сердечно-мозговым экстрактом, – 7,5 г; 10× сбалансированного солевого раствора Хенкса – 40,0 мл; 0,25%-го раствора фенолового красного – 10,0 мл; термически инактивированной свиной сыворотки – 200,0 мл; 5%-го гидролизата лактальбумина в 1× фосфатно-буферном растворе – 100,0 мл; дрожжевого экстракта – 20,0 мл и дистиллированной воды – 660,0 мл. Культивирование проводили в инкубаторе при температуре (37 ± 0,5) °C и 5% CO₂ в течение 5 сут. После завершения инкубации наблюдалось помутнение в пробирках и изменение цвета среды (пожелтение), на плотной питательной среде формировались колонии, характерные для *M. dispar*. Определение биологической активности *M. dispar* проводили путем подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) [49, 50].

Выделение ДНК осуществляли с использованием коммерческого набора «Ампли Прайм РИБО-сорб» (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Постановка ПЦР-РВ. Реакционная смесь для амплификации на одну реакцию содержала следующие компоненты: ПЦР-буфер-Б для Taq ДНК-полимеразы 10× («Синтол», Россия); SynTaq ДНК-полимераза с ингибирующими активностью фермента антителами, 5 ЕД/мкл («Синтол», Россия); 25 мМ водный раствор хлорида магния MgCl₂ («Синтол», Россия); 100 мМ водных растворов четырех дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (дНТФ): дАТФ, дГТФ, дТТФ, дЦТФ (готовится общая смесь дНТФ и разводится водой, свободной от нуклеаз, до концентрации 10 мМ каждого дНТФ; Fermentas, Литва); прямой праймер (100 пмоль/мкл), обратный праймер (100 пмоль/мкл) и TaqMan-зонд (100 пмоль/мкл) для выявления участка гена, кодирующего 16S рРНК *M. dispar* («Синтол», Россия); прямой праймер (100 пмоль/мкл), обратный праймер (100 пмоль/мкл) и TaqMan-зонд (100 пмоль/мкл) для выявления искусственно синте-

зированного ВКО («Синтол», Россия) [51]. Полученный объем реакционной смеси доводили до 15 мкл водой деионизированной, свободной от нуклеаз («Евроген», Россия). После добавляли в подготовленные пробирки по 15 мкл реакционной смеси и по 10 мкл ДНК-матрицы исследуемых образцов. Амплификацию проводили в программируемом амплификаторе Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия).

Таблица 1
Значения порогового цикла Ct при оптимизации температурно-временного режима ПЦР-РВ для выявления ДНК *M. dispar* (n = 3)

Table 1
Threshold cycle (Ct) values of optimized real-time polymerase chain reaction temperature-time profile for *M. dispar* DNA detection (n = 3)

Стадия реакции	Темпе- ратура	Продолжительность	Количество циклов	Среднее значение Ct ± SD
1-й режим				
Прогрев реакционной смеси	95 °C	5 мин	1	25,46 ± 0,37
Денатурация	95 °C	15 с	40	
Отжиг праймеров и элонгация	60 °C	60 с (измерение флуоресценции Green/FAM, Red/Cy5)		
2-й режим				
Прогрев реакционной смеси	95 °C	5 мин	1	26,30 ± 0,86
Денатурация	95 °C	10 с	40	
Отжиг праймеров	60 °C	20 с (измерение флуоресценции Green/FAM, Red/Cy5)		
Элонгация	72 °C	20 с		
3-й режим				
Прогрев реакционной смеси	95 °C	5 мин	1	28,87 ± 0,15
Денатурация	95 °C	10 с	45	
Отжиг праймеров	58 °C	20 с (измерение флуоресценции Green/FAM, Red/Cy5)		
Элонгация	72 °C	20 с		

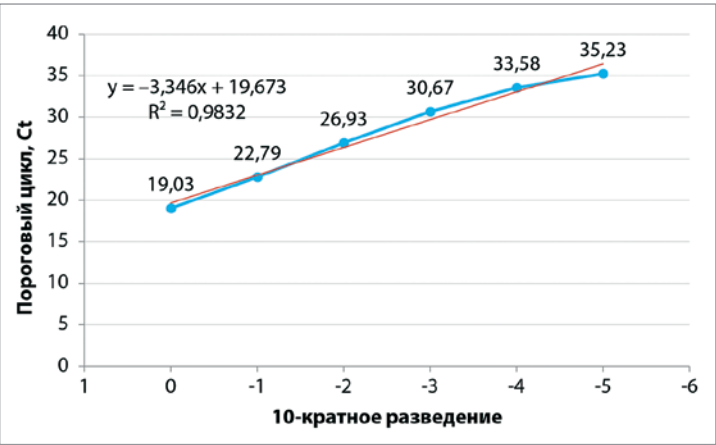


Рис. 1. Линейная зависимость результатов ПЦР-РВ при тестировании 10-кратных разведений ДНК генома *M. dispar*
Fig. 1. Linear correlation of real-time polymerase chain reaction results for 10-fold dilutions of the *M. dispar* genome DNA

Таблица 2
Определение специфичности разработанной тест-системы на основе ПЦР-РВ для выявления ДНК *M. dispar* ($n = 3$)

Table 2
Specificity assessment of the developed real-time polymerase chain reaction kit for *M. dispar* DNA detection ($n = 3$)

Генетический материал	Штамм	Результат ПЦР-РВ, Green/FAM (ДНК <i>M. dispar</i>)	Результат ПЦР-РВ, Red/Cy5 (ДНК ВКО)
<i>Escherichia coli</i>	«ЕС-21»	отр.	+
<i>Mannheimia haemolytica</i>	«№1412»	отр.	+
<i>Pasteurella multocida</i>	«№1414»	отр.	+
<i>Mycoplasma bovis</i>	ATCC № 19852	отр.	+
<i>Mycoplasma bovis</i>	изолят	отр.	+
<i>Mycoplasma dispar</i>	ATCC № 27140	пол.	+
<i>Mycoplasma dispar</i>	изолят	пол.	+
<i>Mycoplasma bovis</i>	ATCC № 25523	отр.	+
<i>Mycoplasma bovis</i>	«Калуга 2020»	отр.	+
<i>Mycoplasma bovis</i>	изолят	отр.	+
<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> SC (MmmSC)	«Т1/44/ВНИИЗЖ»	отр.	+
<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> SC (MmmSC)	Madugri-8	отр.	+
Вирус парагриппа-3 КРС	«ВГНКИ-4»	отр.	+
Респираторно-синцитиальный вирус КРС	«Вологда/2020»	отр.	+
Вирус вирусной диареи КРС	«NADL-ВНИИЗЖ»	отр.	+
Вода, свободная от нуклеаз	—	отр.	+

отр. – ДНК *M. dispar* не выявлена (*M. dispar* DNA was not detected); пол. – ДНК *M. dispar* выявлена (*M. dispar* DNA was detected); «+» – ДНК ВКО выявлена (internal control sample DNA was detected).

Таблица 3
Вариабельность значений порогового цикла Ct в ПЦР-РВ для *M. dispar* ($n = 15$)

Table 3
Variability of real-time polymerase chain reaction Ct values for *M. dispar* ($n = 15$)

Номер постановки	Номер повторности	Полученное значение Ct	Среднее значение Ct	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CV, %)
I	1	27,09	26,74	0,22	0,82
	2	26,76			
	3	26,51			
	4	26,68			
	5	26,64			
II	1	27,41	27,36	0,18	0,66
	2	27,50			
	3	27,54			
	4	27,13			
	5	27,20			
III	1	26,58	27,00	0,34	1,26
	2	26,93			
	3	27,32			
	4	27,38			
	5	26,77			
Итого			27,03	0,25	0,91

В качестве положительного контрольного образца (ПКО) использовали плазмидную конструкцию, содержащую олигонуклеотидную последовательность участка генома (с начальной концентрацией 2×10^7 копий/мкл) и специфичный участок генома *M. dispar* (целевой фрагмент).

В качестве отрицательного контрольного образца (ОКО) и отрицательного контроля ПЦР (ОК) использовали воду деионизированную, свободную от нуклеаз («Евроген», Россия).

Валидация. Валидационные параметры тест-системы определяли согласно рекомендованному S. A. Bustin et al. руководству по публикации результатов разработки количественных ПЦР-РВ-протоколов [52].

Для установления специфичности разработанной ПЦР-РВ были протестированы образцы биологического материала, содержащие ДНК представителей рода *Mycoplasma* и нуклеиновые кислоты вирусов и бактерий, способных вызывать аналогичную патологию у КРС. Чувствительность тест-системы определяли, используя заведомо положительные пробы биологического материала, содержащие ДНК *M. dispar*.

Предел обнаружения ДНК *M. dispar* (аналитическую чувствительность) разработанной тест-системы устанавливали, применяя ПКО, включающий ДНК *M. dispar* с начальной концентрацией 2×10^7 копий/мкл, каждое разведение исследовалось в 5 повторностях.

Эффективность амплификации оценивали с помощью серии последовательных 10-кратных разведений положительного образца биоматериала, содержащего ДНК *M. dispar*, в 3 повторностях и вычисляли согласно формуле:

$$E = (10^{1/\text{slope}} - 1) \times 100\%,$$

где slope – это значение наклона линейной области зависимости Ct от логарифма концентрации кДНК-матрицы.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Excel: рассчитывали средние значения и их стандартные отклонения ($\pm$ SD), проводили регрессионный анализ и вычисляли коэффициенты вариации. Коэффициент вариации (CV) при оценке воспроизводимости и схожести (повторяемости) не должен превышать 10%.

Анализ промежуточной прецизионности в условиях повторяемости (воспроизводимости) проводили с одним образцом, который тестировали в 5 повторностях в течение трех постановок ПЦР-РВ ($n = 15$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые в России в ФГБУ «ВНИИЗЖ» была разработана и валидирована тест-система на основе ПЦР-РВ с применением ВКО для выявления ДНК *M. dispar*.

Использование ВКО значительно повышает достоверность и точность результатов ПЦР, в том числе решает проблемы ингибирования. Комитет Американской ассоциации ветеринарных лабораторных диагностов (AAVLD) рекомендовал, чтобы все внедряемые молекулярные диагностические тесты, которые проходят процедуру валидации, включали стратегию контроля ингибирования реакции, основанную на внутренней валидации для тестируемого образца, целевого вида-хозяина и комбинации матриц проб [53].

Начальным этапом валидации тест-системы был подбор температурного профиля, при котором

достигается максимальная аналитическая чувствительность и эффективность амплификации.

Оптимизация температурно-временного режима ПЦР-РВ проводилась с ранее выверенными концентрациями компонентов реакции для получения средних значений порогового цикла *Ct*. Результаты представлены в таблице 1.

Был определен следующий оптимальный температурно-временной режим ПЦР-РВ для выявления ДНК *M. dispar*: 5 мин при 95 °С (прогрев реакционной смеси), далее 40 циклов ПЦР, состоящих из денатурации ДНК в течение 15 с при 95 °С, отжига праймеров и элонгации кДНК в течение 60 с при 60 °С.

В результате проведенных испытаний продемонстрировано, что разработанная тест-система позволяет избежать ложноположительных результатов при тестировании с генетическим материалом бактерий – возбудителей респираторных заболеваний КРС. Показано, что тест-система обладает 100%-й аналитической специфичностью в отношении *M. dispar* (табл. 2), что выше, чем в исследовании J. B. W. J. Cornelissen et al., где специфичность составила 98,2% [54]. Олигонуклеотиды также верифицировались по базе данных BLAST NCBI, при этом значимой гомологии ни с одним из видов микоплазм не установлено, то есть олигонуклеотиды уникальны для генома *M. dispar*.

Эффективность амплификации при постановке реакции оценивали с помощью серии последовательных 10-кратных разведений положительного образца, содержащего ДНК *M. dispar*. На основе полученных средних значений порогового цикла каждого разведения эффективность амплификации (Е) составила 99,01%, что оказалось более значительным по сравнению с 97,49%-й эффективностью, продемонстрированной J. B. W. J. Cornelissen et al. при разработке одноплексной ПЦР [54]. Коэффициент детерминации (R^2) при этом был равен 0,9832 (рис. 1).

Внутрилабораторную прецизионность в условиях воспроизводимости оценивали с учетом таких показателей, как «персонал», «время» и «оборудование». Испытания осуществляли с использованием биологического материала, содержащего и не содержащего ДНК *M. dispar*. Проведенные исследования показали, что результаты выявления ДНК *M. dispar* с использованием разработанной тест-системы полностью совпадают с ожидаемым результатом и не зависят от показателей «время», «персонал» и «оборудование».

Оценку промежуточной прецизионности в условиях повторяемости (сходимости) проводили с одним

Таблица 4

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) тест-системы ПЦР-РВ для выявления ДНК *M. dispar*

Table 4

Analytical sensitivity (detection limit) of the real-time polymerase chain reaction test kit for *M. dispar* DNA detection

Характеристика матрицы	Результат выявления ДНК <i>M. dispar</i> , повторность					Соответствие ожидаемому результату, %
	1	2	3	4	5	
2×10^7 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
2×10^6 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
2×10^5 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
2×10^4 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
2×10^3 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
2×10^2 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
20 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
10 копий ДНК/мкл	пол.	пол.	пол.	пол.	пол.	100
5 копий ДНК/мкл	отр.	пол.	отр.	пол.	отр.	40

пол. – ДНК *M. dispar* выявлена (*M. dispar* DNA detected);

отр. – ДНК *M. dispar* не выявлена (*M. dispar* DNA not detected).

Таблица 5

Требования к результатам контролей после амплификации

Table 5

Requirements for the control results following amplification

Контроль	Значение порогового цикла (<i>Ct</i>)	
	канал Green/FAM	канал Red/Cy5
Отрицательный контроль ПЦР	отсутствует	отсутствует
Отрицательный контрольный образец «ОКО»	отсутствует	≤ 35
Положительный контроль « <i>M. dispar</i> »	≤ 35	≤ 35

образцом, который тестировали в 5 повторностях в течение трех постановок ПЦР ($n = 15$).

Среднее значение порогового цикла (*Ct*) на протяжении трех постановок ПЦР-РВ варьировало от 26,74 до 27,36 с разбросом стандартного отклонения (SD) от 0,18 до 0,34. Коэффициент вариации составил 0,91% при максимальном допустимом значении 10%. При суммировании результатов трех постановок ПЦР-РВ среднее значение порогового цикла (*Ct*) и стандартного отклонения было равно 27,03 и $\pm 0,25$ соответственно (табл. 3).

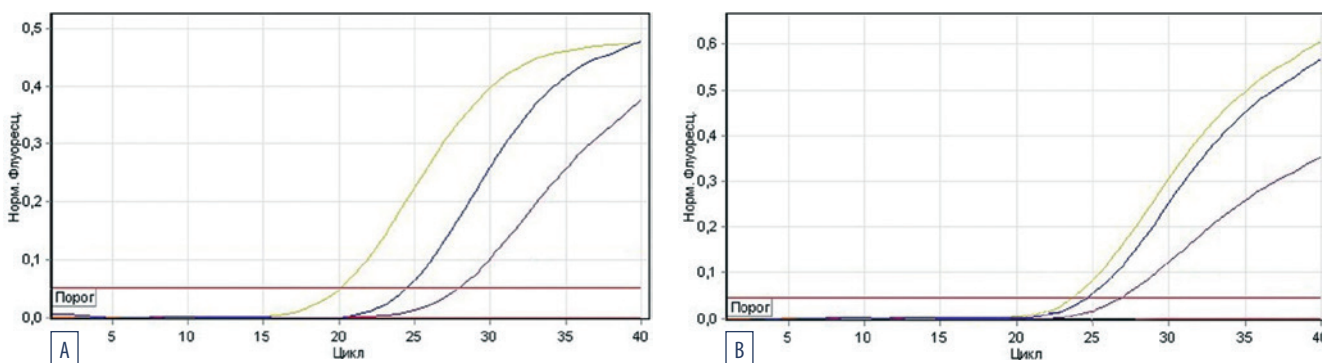


Рис. 2. Кривые флуоресценции: А – канал Green/FAM (ДНК *M. dispar*); В – канал Red/Cy5 (ДНК ВКО)

Fig. 2. Fluorescence curves: А – Green/FAM channel (*M. dispar* DNA); В – Red/Cy5 channel (internal control sample DNA)

На следующем этапе определяли предел обнаружения (аналитическую чувствительность) ДНК *M. dispar*, выделенной из ряда 10-кратных последовательных разведений искусственно синтезированной последовательности ДНК, соответствующей специфичному участку в геноме *M. dispar*, с исходной активностью 2×10^7 копий ДНК/мкл. Каждое разведение исследовалось в 5 повторностях (табл. 4).

Таблица 6
Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Table 6
Interpretation of the results for the tested samples

Значение порогового цикла (Ct)		Результат
канал Green/FAM (ДНК <i>M. dispar</i>)	канал Red/Cy5 (ВКО)	
отсутствует	≤ 35	ДНК <i>M. dispar</i> не выявлена
≤ 35	определено или отсутствует	ДНК <i>M. dispar</i> выявлена
> 35	≤ 35	сомнительный ¹
отсутствует или > 35	отсутствует или > 35	недостоверен ²

¹ провести повторное исследование для соответствующих образцов начиная с этапа экстракции ДНК, при повторении результата считать, что ДНК *M. dispar* в образце выявлена (re-test relevant samples, starting from the DNA extraction stage, if the test yields the same results, it can be assumed that *M. dispar* DNA has been detected in the original sample);

² провести повторное исследование для соответствующих образцов начиная с этапа экстракции ДНК (re-test the relevant samples, starting from the DNA extraction stage).

Таблица 7
Идентификация и выявление генома *M. dispar* в пробах биоматериала с использованием разработанной тест-системы в 2024 г.

Table 7
Identification and detection of *M. dispar* genome in biological samples using the developed test kit in 2024

Регион	Смывы (назальные, трахеальные)		Патологический материал (стабилизированная кровь, кусочки легких, трахеи и лимфатических узлов, плевральная жидкость)	
	Общее количество проб	Количество положительных проб	Общее количество проб	Количество положительных проб
Воронежская область	—	—	52	0
Вологодская область	—	—	2	0
Владимирская область	12	10	24	4
Московская область	22	8	2	2
Нижегородская область	10	0	10	4
Чувашская Республика	10	10	—	—
Краснодарский край	—	—	2	0
Республика Татарстан	24	24	2	2
Рязанская область	10	0	4	4
Ярославская область	—	—	4	0
Республика Марий Эл	—	—	2	2
Оренбургская область	6	2	8	6
Самарская область	16	6	6	6
Итого	110	60	118	30

«—» — пробы для исследования из данного региона не поступали (samples from this region were not received for testing).

Установлено, что для разработанной тест-системы на основе ПЦР-РВ предел обнаружения ДНК *M. dispar* составляет 10 копий ДНК/мкл (100 копий ДНК/реакцию).

В исследованиях, проведенных L. McAuliffe et al., для дифференциации 32 видов микоплазм был использован денатурирующий градиентный гель-электрофорез (DGGE) продукта ПЦР 16S рибосомальной ДНК. Данный метод позволяет быстро идентифицировать многие виды микоплазм, для которых не существует специфичной ПЦР и которые выявляются с помощью культуральных и серологических тестов [39, 40]. Однако артефакты, вносимые в ходе ПЦР или последующего DGGE-анализа, приводят к искажению результатов при использовании этого метода для количественного анализа α -разнообразия или относительного обилия оперативных таксономических единиц [55].

Некоторые исследователи для выявления *M. dispar* в пробах биологического материала использовали классическую ПЦР [31, 38, 56], однако ПЦР-РВ позволяет в режиме реального времени без использования гелей быстрее получить более точные результаты [57].

Анализ и интерпретация результатов. Рекомендуемые параметры ПЦР-анализа для каналов Green/FAM и Red/Cy5 тождественны: установка динамического фона, корректировка уклона, устранение выбросов на 10%, линейная шкала и пороговое значение, которое составляет 0,05 (рис. 2). Результаты интерпретируются на основании наличия или отсутствия пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией, что соответствует наличию или отсутствию на каналах Green/FAM и Red/Cy5 значений пороговых циклов амплификации (Ct) в соответствующих графах таблиц результатов, отображаемых амплификатором.

Результат ПЦР-РВ считают достоверным при условии получения корректных результатов для отрицательного контроля ПЦР, отрицательного контрольного образца «ОКО» (контроль экстракции) и положительного контроля «*M. dispar*». Требования к контролям описаны в таблице 5.

Интерпретацию результатов для исследуемых образцов необходимо проводить согласно требованиям, представленным в таблице 6.

С использованием разработанной тест-системы исследовали 228 проб биоматериала, отобранного от КРС с клиническими признаками респираторной патологии, поступивших в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2024 г. из 13 регионов РФ. Результаты представлены в таблице 7.

Установлено, что частота обнаружения ДНК *M. dispar* в образцах биоматериала составила 39,47%. Полученные данные свидетельствуют о достаточно широком распространении *M. dispar* среди КРС в российских хозяйствах в 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований были установлены основные валидационные параметры и доказана возможность применения тест-системы «МИК-ДИСПАР ПЦР-РВ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») для выявления ДНК *Mycoplasma dispar* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, которая продемонстрировала высокую аналитическую специфичность и чувствительность, сходимость и воспроизводимость в различных условиях проведения теста (диапазон коэффициента вариации: 0,66–0,91%). Эффективность амплификации (E) составила 99,01%,

а предел обнаружения – 100 копий ДНК/реакцию. Важно отметить, что данные показатели являются ключевыми в объективной оценке качества тест-систем ПЦР.

Использование экзогенного внутреннего контрольного образца позволяет исключить ложноотрицательные результаты. С применением разработанной тест-системы в 2024 г. ДНК *M. dispar* была выявлена в 39,47% исследованных проб, поступивших из разных регионов РФ в ФГБУ «ВНИИЗЖ», что свидетельствует об актуальности диагностических исследований на обнаружение ДНК *M. dispar*. При этом внутренний контрольный образец служит индикатором этапа выделения и присутствия возможных ингибиторов.

Следует отметить, что валидационная составляющая данного исследования может быть расширена за счет включения других родственных микоплазм, таких как *M. bovirhinis*, *M. flocculare* и *M. ovipneumoniae*, однако данные о выявлении указанных патогенов у крупного и мелкого рогатого скота на территории РФ отсутствуют. Более того, *M. ovipneumoniae* является возбудителем микоплазменной пневмонии овец и коз, и риски его циркуляции среди КРС ничтожно малы [58, 59, 60]. Учитывая высокую специфичность олигонуклеотидов при использовании ресурса BLAST, тест-система может применяться для диагностических исследований КРС на выявление ДНК *M. dispar*.

Таким образом, данная тест-система может служить эффективным инструментом в ветеринарной лабораторной практике для выявления ДНК *M. dispar* в пробах биологического материала от КРС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Tortorelli G., Carrillo Gaeta N., Mendonça Ribeiro B. L., Miranda Marques L., Timenetsky J., Gregory L. Evaluation of *Mollicutes* microorganisms in respiratory disease of cattle and their relationship to clinical signs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2017; 31 (4): 1215–1220. <https://doi.org/10.1111/jvim.14721>
2. Chen S., Hao H., Yan X., Liu Y., Chu Y. Genome-wide analysis of *Mycoplasma dispar* provides insights into putative virulence factors and phylogenetic relationships. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 2019; 9 (2): 317–325. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200941>
3. Абед Алхуссен М., Кирпиченко В. В., Яцентюк С. П., Нестеров А. А., Бьядовская О. П., Жбанова Т. В., Спрыгин А. В. Патогенные микоплазмы крупного рогатого скота *Mycoplasma bovis*, *M. bovisgenitalium* и *M. dispar*: краткая характеристика возбудителей (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2021; 56 (2): 245–260. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.245rus>
4. Abed Alhussen M., Kirpichenko V. V., Yatsentyuk S. P., Nesterov A. A., Byadovskaya O. P., Zhananova T. V., Sprygin A. V. *Mycoplasma bovis*, *M. bovisgenitalium* and *M. dispar* as bovine pathogens: brief characteristics of the pathogens (review). *Agricultural Biology*. 2021; 56 (2): 245–260. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.245eng>
5. Herrmann R. Genome structure and organization. In: *Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis*. Ed. by J. Maniloff. Washington: American Society for Microbiology; 1992: 157–168.
6. Ter Laak E. A., Noordergraaf J. H. An improved method for the identification of *Mycoplasma dispar*. *Veterinary Microbiology*. 1987; 14 (1): 25–31. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(87\)90049-6](https://doi.org/10.1016/0378-1135(87)90049-6)
7. Nicholas R. A. J., Khan L. A., Houshaymi B., Miles R. J., Ayling R. D., Hotzel H., Sachse K. Close genetic and phenotypic relatedness between *Mycoplasma ovine/caprine* serogroup 11 and *Mycoplasma bovisgenitalium*. *Systematic and Applied Microbiology*. 2002; 25 (3): 396–402. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00121>
8. Ter Laak E. A., Noordergraaf J. H., Dijkstra R. P. J. W. Prevalence of mycoplasmas in the respiratory tracts of pneumonic calves. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 1992; 39 (1–10): 553–562. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1992.tb01205.x>
9. Nicholas R., Ayling R., McAuliffe L. *Mycoplasma* diseases of ruminants. Wallingford: CAB; 2008. 239 p. <https://doi.org/10.1079/9780851990125.0000>
10. Almeida R. A., Rosenbusch R. F. Capsulelike surface material of *Mycoplasma dispar* induced by *in vitro* growth in culture with bovine cells is antigenically related to similar structures expressed *in vivo*. *Infection and Immunity*. 1991; 59 (9): 3119–3125. <https://doi.org/10.1128/iai.59.9.3119-3125.1991>
11. Howard C. J., Gourlay R. N., Taylor G. Immunity to *Mycoplasma* infections of the calf respiratory tract. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1981; 137: 711–726. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7331951>
12. Ayling R. D., Bashiruddin S. E., Nicholas R. A. J. *Mycoplasma* species and related organisms isolated from ruminants in Britain between 1990 and 2000. *Veterinary Record*. 2004; 155 (14): 413–416. <https://doi.org/10.1136/vr.155.14.413>
13. França Dias de Oliveira B. A., Carrillo Gaeta N., Mendonça Ribeiro B. L., Reyes Alemán M. A., Miranda Marques L., Timenetsky J., et al. Determination of bacterial aetiological factor on tracheobronchial lavage in relation to clinical signs of bovine respiratory disease. *Journal of Medical Microbiology*. 2016; 65 (10): 1137–1142. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000345>

13. Bottinelli M., Passamonti F., Rampacci E., Stefanetti V., Pochiero L., Coletti M., et al. DNA microarray assay and real-time PCR as useful tools for studying the respiratory tract *Mycoplasma* populations in young dairy calves. *Journal of Medical Microbiology*. 2017; 66 (9): 1342–1349. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000571>
14. Mosier D. Review of BRD pathogenesis: the old and the new. *Animal Health Research Reviews*. 2014; 15 (2): 166–168. <https://doi.org/10.1017/S1466252314000176>
15. Taylor G. Immunity to *Mycoplasma* infections of the respiratory tract: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1979; 72 (7): 520–526. <https://doi.org/10.1177/014107687907200711>
16. Абед Алхуссен М., Нестеров А. А., Кирпиченко В. В., Яцентюк С. П., Спрыгин А. В., Бьядовская О. П., Кононов А. В. Распространение микоплазмозов крупного рогатого скота на животноводческих фермах в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 год. *Ветеринария сегодня*. 2020; (2): 102–108. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108>
17. Abed Alhussen M., Nesterov A. A., Kirpichenko V. V., Yatsentyuk S. P., Sprygin A. V., Byadovskaya O. P., Kononov A. V. Bovine mycoplasmosis occurrence on livestock farms in the Russian Federation for 2015–2018. *Veterinary Science Today*. 2020; (2): 102–108. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108>
18. Bernier Gosselin V., Francoz D., Babkine M., Desrochers A., Nichols S., Doré E., et al. A retrospective study of 29 cases of otitis media/interna in dairy calves. *The Canadian Veterinary Journal*. 2012; 53 (9): 957–962. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23450859>
19. Parker A. M., Sheehy P. A., Hazelton M. S., Bosward K. L., House J. K. A review of *Mycoplasma* diagnostics in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2018; 32 (3): 1241–1252. <https://doi.org/10.1111/jvim.15135>
20. Ter Laak E. A., Noordergraaf J. H., Verschure M. H. Susceptibilities of *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma dispar*, and *Ureaplasma diversum* strains to antimicrobial agents *in vitro*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993; 37 (2): 317–321. <https://doi.org/10.1128/AAC.37.2.317>
21. Tegtmeyer C., Utenthal A. A., Friis N. F., Jensen N. E., Jensen H. E. Pathological and microbiological studies on pneumonic lungs from Danish calves. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 1999; 46 (10): 693–700. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.1999.00301.x>
22. Bottinelli M., Merenda M., Gastaldelli M., Picchi M., Stefani E., Nicholas R. A. J., Catania S. The pathogen *Mycoplasma dispar* shows high minimum inhibitory concentrations for antimicrobials commonly used for bovine respiratory disease. *Antibiotics*. 2020; 9 (8):460. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9080460>
23. DeDonder K. D., Apley M. D. A literature review of antimicrobial resistance in Pathogens associated with bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*. 2015; 16 (2): 125–134. <https://doi.org/10.1017/S146625231500016X>
24. Anholt R. M., Klima C., Allan N., Matheson-Bird H., Schatz C., Ajitkumar P., et al. Antimicrobial susceptibility of bacteria that cause bovine respiratory disease complex in Alberta, Canada. *Frontiers in Veterinary Science*. 2017; (4):207. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00207>
25. Dabo S. M., Taylor J. D., Confer A. W. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*. 2007; 8 (2): 129–150. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001399>
26. Almeida R. A., Wannemuehler M. J., Rosenbusch R. F. Interaction of *Mycoplasma dispar* with bovine alveolar macrophages. *Infection and Immunity*. 1992; 60 (7): 2914–2919. <https://doi.org/10.1128/iai.60.7.2914-2919.1992>
27. Friis N. F. *Mycoplasma dispar* as a causative agent in pneumonia of calves. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 1980; 21: 34–42. <https://doi.org/10.1186/bf03546898>
28. Ross R. F. *Mycoplasma* – animal pathogens. In: *Rapid Diagnosis of Mycoplasmas*. Ed. by I. Kahane, A. Adoni. Boston: Springer; 1993: 69–109. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2478-6_7
29. Jasper D. E. Bovine mycoplasmal mastitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1979; 175 (10): 1072–1074. <https://doi.org/10.2460/javma.1979.175.101072>
30. Gourlay R. N., Howard C. J., Thomas L. H., Wyld S. G. Pathogenicity of some *Mycoplasma* and *Acholeplasma* species in the lungs of gnotobiotic calves. *Research in Veterinary Science*. 1979; 27 (2): 233–237. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)32836-4](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)32836-4)
31. George T. D., Horsfall N., Sullivan N. D. A subclinical pneumonia of calves associated with *Mycoplasma dispar*. *Australian Veterinary Journal*. 1973; 49 (12): 580–586. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1973.tb06738.x>
32. Shilan Faqe Muhammad Salih. Detection of *Mycoplasma dispar* in bovine respiratory disease by polymerase chain reaction assay in Sulaimaniyah city. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*. 2024; 55 (2): 703–710. <https://doi.org/10.36103/p6042k98>
33. Andersson A.-M., Aspán A., Wisselink H. J., Smid B., Ridley A., Pelkonen S., et al. A European inter-laboratory trial to evaluate the performance of three serological methods for diagnosis of *Mycoplasma bovis* infection in cattle using latent class analysis. *BMC Veterinary Research*. 2019; 15:369. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2117-0>
34. Dudek K., Nicholas R. A. J., Szacawa E., Bednarek D. *Mycoplasma bovis* infections – occurrence, diagnosis and control. *Pathogens*. 2020; 9 (8):640. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080640>
35. Абед Алхуссен М. Молекулярно-биологические методы диагностики микоплазмозов крупного рогатого скота: дис. ... канд. вет. наук. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2023. 194 с.
36. Abed Alhussen M. Molecular and biological methods for bovine mycoplasmosis diagnostics: Author's thesis for degree of Cand. Sci. (Veterinary Medicine). Vladimir: Federal Centre for Animal Health; 2023. 194 p. (in Russ.)
37. Howard C. J. Mycoplasmas and bovine respiratory disease: studies related to pathogenicity and the immune response – a selective review. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 1983; 56 (5–6): 789–797. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6382831>
38. Martin S. W., Bateman K. G., Shewen P. E., Rosendal S., Bohac J. E. The frequency, distribution and effects of antibodies, to seven putative respiratory pathogens, on respiratory disease and weight gain in feedlot calves in Ontario. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1989; 53 (3): 355–362. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2766158>
39. Martin S. W., Bateman K. G., Shewen P. E., Rosendal S., Bohac J. G., Thorburn M. A group level analysis of the associations between antibodies to seven putative pathogens and respiratory disease and weight gain in Ontario feedlot calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1990; 54 (3): 337–342. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2165846>

38. Miles K., McAuliffe L., Ayling R. D., Nicholas R. A. J. Rapid detection of *Mycoplasma dispar* and *M. bovirhinis* using allele specific polymerase chain reaction protocols. *FEMS Microbiology Letters*. 2004; 241 (1): 103–107. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.10.010>
39. McAuliffe L., Ellis R. J., Lawes J. R., Ayling R. D., Nicholas R. A. J. 16S rDNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis; a single generic test for detecting and differentiating *Mycoplasma* species. *Journal of Medical Microbiology*. 2005; 54 (8): 731–739. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46058-0>
40. McAuliffe L., Ellis R. J., Ayling R. D., Nicholas R. A. J. Differentiation of *Mycoplasma* species by 16S ribosomal DNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41 (10): 4844–4847. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.10.4844-4847.2003>
41. Baird S. C., Carman J., Dinsmore R. P., Walker R. L., Collins J. K. Detection and identification of *Mycoplasma* from bovine mastitis infections using a nested polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1999; 11 (5): 432–435. <https://doi.org/10.1177/104063879901100507>
42. Moalic P.-Y., Gesbert F., Kempf I. Utility of an internal control for evaluation of a *Mycoplasma meleagridis* PCR test. *Veterinary Microbiology*. 1998; 61 (1–2): 41–49. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(98\)00173-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(98)00173-4)
43. Maaroufi Y., de Bruyne J.-M., Duchateau V., Scheen R., Crokaert F. Development of a multiple internal control for clinical diagnostic real-time amplification assays. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2006; 48 (2): 183–191. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00125.x>
44. Hymas W., Stevenson J., Taggart E. W., Hillyard D. Use of lyophilized standards for the calibration of a newly developed real time PCR assay for human herpes type six (HHV6) variants A and B. *Journal of Virological Methods*. 2005; 128 (1–2): 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.05.003>
45. Dingle K. E., Crook D., Jeffery K. Stable and noncompetitive RNA internal control for routine clinical diagnostic reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42 (3): 1003–1011. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1003-1011.2004>
46. Stöcher M., Leb V., Berg J. A convenient approach to the generation of multiple internal control DNA for a panel of real-time PCR assays. *Journal of Virological Methods*. 2003; 108 (1): 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00266-5](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00266-5)
47. OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases. 2nd ed. 2008. 70 p.
48. Frey J., Nicolet J. Molecular identification and epidemiology of animal mycoplasmas. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 1997; 109 (14–15): 600–603. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9286067>
49. Абед Алхуссен М., Нестеров А. А., Спрыгин А. В., Шумилова И. Н., Брянцева М. С., Бьядовская О. П. Оптимизация состава питательной среды и изучение стадий роста изолята «Калуга 2020» *Mycoplasma bovis*. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 262–267. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-3-262-267>
- Abed Alhussen M., Nesterov A. A., Sprygin A. V., Shumilova I. N., Bryantseva M. S., Byadovskaya O. P. Optimization of medium composition and study of growth stages of *Mycoplasma bovis* "Kaluga 2020" isolate. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 262–267. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-3-262-267>
50. Hwang M.-H., Damte D., Cho M.-H., Kim Y.-H., Park S.-C. Optimization of culture media of pathogenic *Mycoplasma hyopneumoniae* by a response surface methodology. *Journal of Veterinary Science*. 2010; 11 (4): 327–332. <https://doi.org/10.4142/jvs.2010.11.4.327>
51. Морозова Е. О., Кротова А. О., Садчикова А. С., Тенилилов Н. А., Бьядовская О. П., Иголкин А. С. и др. Методические рекомендации по получению экзогенного внутреннего контрольного образца для ПЦР в режиме реального времени при выявлении ДНК микроорганизмов: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 13.10.2023 № 81-23. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2023. 32 с.
- Morozova E. O., Krotova A. O., Sadchikova A. S., Tenitilov N. A., Byadovskaya O. P., Igolkin A. S., et al. Methodical recommendations on preparation of exogenous internal control sample for real-time PCR to detect microorganism DNA: approved by the Federal Centre for Animal Health 13.10.2023 No. 81-23. Vladimir: Federal Centre for Animal Health; 2023. 32 p. (in Russ.)
52. Bustin S. A., Benes V., Garson J. A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M., et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*. 2009; 55 (4): 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
53. Yan L., Toohey-Kurth K. L., Crossley B. M., Bai J., Glaser A. L., Tallmadge R. L., Goodman L. B. Inhibition monitoring in veterinary molecular testing. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2020; 32 (6): 758–766. <https://doi.org/10.1177/1040638719889315>
54. Cornelissen J. B. W. J., de Bree F. M., van der Wal F. J., Kooi E. A., Koene M. G. J., Bossers A., et al. *Mycoplasma* detection by triplex real-time PCR in bronchoalveolar lavage fluid from bovine respiratory disease complex cases. *BMC Veterinary Research*. 2017; 13:97. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1023-6>
55. Neilson J. W., Jordan F. L., Maier R. M. Analysis of artifacts suggests DGGE should not be used for quantitative diversity analysis. *Journal of Microbiological Methods*. 2013; 92 (3): 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.jmimet.2012.12.021>
56. Marques L. M., Buzinhani M., Yamaguti M., Oliveira R. C., Ferreira J. B., Mettifo-go E., Timenetsky J. Use of a polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma dispar* in the nasal mucus of calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2007; 19 (1): 103–106. <https://doi.org/10.1177/104063870701900118>
57. Zhang G., Brown E. W., González-Escalona N. Comparison of real-time PCR, reverse transcriptase real-time PCR, loop-mediated isothermal amplification, and the FDA conventional microbiological method for the detection of *Salmonella* spp. in produce. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011; 77 (18): 6495–6501. <https://doi.org/10.1128/AEM.00520-11>
58. Deeney A. S., Collins R., Ridley A. M. Identification of *Mycoplasma* species and related organisms from ruminants in England and Wales during 2005–2019. *BMC Veterinary Research*. 2021; 17:325. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03037-y>
59. Chen J., Wang S., Dong D., Zhang Z., Huang Y., Zhang Y. Isolation and characterization of *Mycoplasma ovipneumoniae* infecting goats with pneumonia in Anhui Province, China. *Life*. 2024; 14 (2):218. <https://doi.org/10.3390/life14020218>
60. Wolfe L. L., Diamond B., Spraker T. R., Sirochman M. A., Walsh D. P., Machin C. M., et al. A bighorn sheep die-off in southern Colorado involving a *Pasteurella* strain that may have originated from synoptic cattle. *Journal of Wildlife Diseases*. 2010; 46 (4): 1262–1268. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.4.1262>

Поступила в редакцию / Received 11.03.2025

Поступила после рецензирования / Revised 29.04.2025

Принята к публикации / Accepted 03.06.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Абед Алхуссен Мохаммад, канд. вет. наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1210-0303>, alhussenmohammed85@hotmail.com

Федорова Ольга Евгеньевна, ведущий биолог референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0006-0498-2904>, fedorova@arriah.ru

Кротова Алена Олеговна, ведущий биолог референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8311-4681>, krotova@arriah.ru

Бьядовская Ольга Петровна, канд. биол. наук, заведующий референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8326-7151>, bjadovskaya@arriah.ru

Спрыгин Александр Владимирович, д-р биол. наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, sprygin@arriah.ru

Mohammad Abed Alhussen, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1210-0303>, alhussenmohammed85@hotmail.com

Olga E. Fedorova, Leading Biologist, Reference Laboratory for Bovine Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0006-0498-2904>, fedorova@arriah.ru

Alena O. Krotova, Leading Biologist, Reference Laboratory for Bovine Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8311-4681>, krotova@arriah.ru

Olga P. Byadovskaya, Cand. Sci. (Biology), Head of Reference Laboratory for Bovine Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8326-7151>, bjadovskaya@arriah.ru

Alexander V. Sprygin, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, sprygin@arriah.ru

Вклад авторов: Авторы внесли равнозначный вклад при определении целей и задач исследования, сборе литературных данных; при разработке и проведении лабораторных исследований, анализе и систематизации полученных данных; при обобщении, интерпретации результатов и оформлении основных результатов исследования в виде статьи.

Contribution of the authors: All authors contributed equally to formulating the research objectives and aims, conducting literature reviews and data collection; designing and performing laboratory tests, analyzing and systematizing research data; interpreting results and drawing conclusions and preparing and writing the manuscript.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-283-293>
УДК 619:616.98:578.835.2:616-085.37:573.6.086.83:57.083.3

Разработка и применение иммуноферментной тест-системы для оценки гуморального иммунитета против вируса ящура топоти́па SAT2/XIV

Н. Н. Луговская, Ю. С. Елькина, М. А. Шевченко, Ы. М. Гочмурадов, Н. Д. Клюкина, Д. В. Михалишин, А. В. Борисов

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Ящур — высококонтагиозная, экономически значимая болезнь парнокопытных животных, характеризующаяся везикулярными симптомами. Известны 7 серотипов вируса ящура (A, O, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 и Asia 1), иммунологически отличающихся между собой. В последнее время особое внимание уделяется топотипу вируса ящура SAT2/XIV (South African Territories 2) ввиду его быстрого распространения. Одними из основных методов борьбы с ящуром являются вакцинопрофилактика и оценка иммунного статуса поголовья восприимчивых животных.

Цель исследования. Разработка и испытание иммуноферментной тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта иммуноферментного анализа для определения антител к структурным белкам вируса ящура топоти́па SAT2/XIV для оценки эффективности противоящурной вакцины на основе антигена вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023 при ее производстве и последующем применении.

Материалы и методы. Исследуемым материалом служили экспериментальные образцы сыворотки крови крупного рогатого скота, свиней и белых мышей. Испытание разработанной иммуноферментной тест-системы для оценки уровня поствакцинальных антител к вирусу ящура топоти́па SAT2/XIV проводили в сравнении с коммерческими наборами: для определения антител к вирусу ящура SAT 2 (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия) и Solid-phase competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype SAT 2 (IZSLER & The Pirbright Institute, Италия/Великобритания).

Результаты. Эффективность предложенной тест-системы в регистрации выработки антител к вирусу ящура топоти́па SAT2/XIV была выше, чем у других иммуноферментных тест-систем, обладающих выраженной топотипоспецифичностью к возбудителю ящура топоти́па SAT2/VII. У отдельных особей крупного рогатого скота специфические антитела выявляли на 7-е сут после вакцинации. Высокие значения диагностической чувствительности (90%), диагностической специфичности (98%) и диагностической точности (95%) определили высокую степень согласованности результатов реакции иммуноферментного анализа с известным диагностическим статусом обследуемых животных (κ-критерий — 0,896).

Заключение. Таким образом, иммуноферментная тест-система для оценки гуморального иммунитета против вируса ящура топоти́па SAT2/XIV, имеющая 100%-ю степень гомологии с вакцинным штаммом, обладающая высокими диагностическими показателями, является надежным инструментом оценки качества вакцины против ящура SAT2/XIV.

Ключевые слова: вирус ящура серотипа SAT 2, иммуноферментный анализ, гуморальный иммунитет

Благодарности: Работа проведена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие». Авторы выражают благодарность сотрудникам сектора биотехнологии лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ»: ведущему ветеринарному врачу А. А. Харитоновой, главным специалистам Е. А. Разгуляевой и О. О. Будиной — за выполнение отдельных этапов работы.

Для цитирования: Луговская Н. Н., Елькина Ю. С., Шевченко М. А., Гочмурадов Ы. М., Клюкина Н. Д., Михалишин Д. В., Борисов А. В. Разработка и применение иммуноферментной тест-системы для оценки гуморального иммунитета против вируса ящура топоти́па SAT2/XIV. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 283–293. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-283-293>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Луговская Наталья Николаевна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, lugovskaya@arria.ru

Development and application of ELISA test system for assessing humoral immunity against SAT2 topotype XIV foot-and-mouth disease virus

Natalia N. Lugovskaya, Yulia S. El'kina, Maxim A. Shevchenko, Ykhlas M. Gochmuradov, Nadezhda D. Klyukina, Dmitry V. Mikhlishin, Alexey V. Borisov
Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Introduction. Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious, economically significant disease of cloven-hoofed animals, characterized by vesicular symptoms. There are seven known foot-and-mouth disease virus (FMDV) serotypes (A, O, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 and Asia 1), which immunologically differ from each other. Special attention has been recently paid to FMDV of SAT2/XIV topotype (South African Territories 2) due to its rapid spread. One of the key methods of FMD control is vaccination and assessment of the susceptible animal immune status.

© Луговская Н. Н., Елькина Ю. С., Шевченко М. А., Гочмурадов Ы. М., Клюкина Н. Д., Михалишин Д. В., Борисов А. В., 2025

Objective. Development and testing of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system based on the indirect liquid-phase blocking ELISA for the determination of antibodies to structural proteins of SAT2/XIV FMDV in order to evaluate the effectiveness of an FMD vaccine based on SAT-2/XIV/2023 FMDV antigen in the process of its production and subsequent use.

Materials and methods. The test material included experimental serum samples collected from cattle, pigs and white mice. The developed ELISA test system for assessing the level of post-vaccination antibodies against SAT2/XIV FMDV was validated through comparative testing with commercial test-kits: Test-kit for the determination of SAT 2 FMDV antibodies (Federal Centre for Animal Health, Russia) and "Solid-phase competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype SAT 2" (IZSLER & The Pirbright Institute, Italy/Great Britain).

Results. The effectiveness of the proposed test system in detecting the induction of antibodies against SAT2/XIV FMDV was higher than that of other ELISA systems with the pronounced toptype specificity to the SAT2/VII FMD agent. Specific antibodies were detected in individual cattle on day 7 post vaccination. High diagnostic sensitivity (90%), specificity (98%) and accuracy (95%) ensured high degree of the ELISA results consistency with the known diagnostic status of the tested animals (k -criterion – 0.896).

Conclusion. Thus, the ELISA system for assessing humoral immunity against SAT2/XIV FMDV, which is 100% homologous with the vaccine strain and demonstrates high diagnostic parameters, is a reliable tool for assessing the quality of the SAT2/XIV FMD vaccine.

Keywords: serotype SAT 2 FMDV, ELISA, humoral immunity

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health within the research topic "Veterinary Welfare". The authors extend their gratitude to the staff of the Biotechnology Sector at the Laboratory for FMD Prevention of the Federal Centre for Animal Health A. A. Kharitonova, Leading Veterinarian; E. A. Razgulyaeva and O. O. Budina, Chief Specialists, for performing certain stages of the work.

For citation: Lugovskaya N. N., El'kina Yu. S., Shevchenko M. A., Gochmuradov Y. M., Klyukina N. D., Mikhailishin D. V., Borisov A. V. Development and application of ELISA test system for assessing humoral immunity against SAT2 toptype XIV foot-and-mouth disease virus. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 283–293. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-283-293>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Natalia N. Lugovskaya, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, lugovskaya@arriah.ru

ВВЕДЕНИЕ

Ящур – высококонтагиозная, экономически значимая болезнь парнокопытных животных, характеризующаяся везикулярными симптомами. Известны 7 серотипов вируса ящура (А, О, С, SAT 1, SAT 2, SAT 3 и Asia 1), иммунологически различающихся между собой.

Возбудителем заболевания у восприимчивых животных является вирус рода *Aphthovirus* семейства *Picornaviridae*, представляющий собой капсид с заключенной в нем положительно заряженной цепью РНК. Капсид, имеющий структуру икосаэдра с коэффициентом седиментации 146S, сформирован из 60 копий протомерной субъединицы, состоящей из четырех структурных белков VP1–VP4. Поверхностные полипептиды VP1–VP3 несут эпитопы, отвечающие за серотипоспецифичность вируса ящура и продуцирующие выработку вируснейтрализующих антител. Приоритетным полипептидом является VP1, характеризующийся наличием основного белка VP4 более консервативный у разных серотипов возбудителя, и антитела против эпитопов VP4 не обеспечивают защиту от инфекции [1, 2].

К ящуру восприимчивы одомашненные животные, в основном крупный рогатый скот (КРС), свиньи, овцы, козы, буйволы (*Bubalus bubalis*), а также верблюды и верблюдовые Нового Света. Однако иногда вирус ящура выделяют у диких парнокопытных, таких как дикие свиньи, антилопы и олени. Поэтому возможно перекрестное инфицирование между дикими и домашними парнокопытными животными при прямом или непрямом контакте. У симпатрических видов это один из наиболее вероятных путей передачи вируса ящура. Основным резервуаром возбудителя ящура является КРС, поскольку именно для данного вида животных характерно явление вирусоносительства.

Вирусоносителями называют особей, у которых вирус персистирует в ротоглотке более 4 нед. после заражения. У КРС обычно это состояние сохраняется до 6 мес., но у некоторых особей – до 3 лет. У диких животных факт вирусоносительства доказан только для африканских буйволов (*Syncerus caffer*), отдельные особи которых сохраняли в себе вирус в течение 5 лет, а в стаде возбудитель способен циркулировать на протяжении 24 лет и более. Эта особенность КРС значительно затрудняет борьбу с ящуром, особенно в регионах, эндемичных по данной болезни. К ним относится ряд стран в Африке, на Ближнем Востоке и в Азии, а также на ограниченной территории Южной Америки [1], что, в свою очередь, создает серьезную опасность распространения ящура за пределы эндемичных территорий.

Борьба с ящуром заключается в проведении своевременных профилактических мероприятий, таких как эффективный эпидемиологический контроль за болезнью; вакцинирование против ящура домашних и сельскохозяйственных животных; надзор за передвижением диких парнокопытных животных в приграничных районах, подверженных риску проникновения возбудителя из стран, неблагополучных по ящуру; мониторинговые исследования по оценке иммунного статуса сельскохозяйственного и домашнего скота, включая ретроспективную диагностику ящура. Поскольку вирус разных серотипов практически не вызывает перекрестного иммунитета и при использовании вакцин на основе штаммов возбудителя, отличных от полевых, даже в рамках одного серотипа защита может быть слабой, при разработке вакцинных препаратов необходим тщательный подбор штаммов для обеспечения максимально возможной защиты поголовья от ящура в конкретном регионе [1, 2].

В последнее время особое внимание уделяется экзотическому для многих регионов мира, в том числе и для России, серотипу вируса ящура SAT 2. Само название, представляющее собой английскую аббревиатуру South African Territories (южноафриканские территории), говорит о происхождении данного серотипа. На территории Африканского континента периодически регистрируются вспышки ящура, вызванные вирусом серотипа SAT 2, представители которого характеризуются высокой генетической изменчивостью и разделяются на 14 топотипов (I–XIV) [3]. До недавнего времени эпизоотическая ситуация по ящуру в Африке преимущественно была связана с представителями серотипа SAT 2 топотипа VII (SAT2/VII), однако в 2022 г. началось быстрое распространение вируса серотипа SAT 2 топотипа XIV (SAT2/XIV), в результате чего он вышел за пределы эндемичных территорий. Вспышки ящура, вызванные вирусом топотипа SAT2/XIV, зарегистрированы в 2023 г. в некоторых странах Евразийского континента, в том числе в Ираке, Иордании, Турции.

Возбудитель ящура серотипа SAT 2, циркулировавший в Ираке в 2023 г., тесно связан с изолятами вируса, выделенными в Эфиопии в 2022 г. (SAT2/ETH/3/22 и SAT2/ETH/2/22). Оба вируса были получены от инфицированного КРС в марте 2022 г. Согласно сообщениям, вирус, выделяемый в настоящее время в Иордании, также имеет отношение к указанному иракскому вирусу. Распространение экзотического вируса ящура на крупные восприимчивые популяции КРС и буйволов в Ираке угрожает многочисленным популяциям животных в Иране, Турции и ряде других стран Ближнего Востока и вызывает серьезную обеспокоенность [4].

Тесное сотрудничество со странами СНГ и Ближнего Востока, торгово-экономические связи Российской Федерации со странами Африканского континента, где не проводится профилактическая вакцинация поголовья скота против ящура, вызванного возбудителем серотипа SAT 2, повышают риск заноса инфекционного агента на территорию нашей страны. В связи с этим большую актуальность приобретают производство вакцин против ящура, вызванного вирусом данного серотипа, в том числе топотипа SAT2/XIV, разработка и внедрение диагностических тест-систем для оценки эффективности вакцинации и напряженности поствакцинального иммунитета у сельскохозяйственных и домашних парнокопытных животных, а также для обнаружения постинфекционных антител к возбудителю ящура в сыворотке крови невакцинированных животных.

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» разработана и успешно прошла испытания противоящурная моно- и поливалентная вакцина на основе антигена вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023 [4]. Данный штамм получен путем адаптации к репродукции в первично трипсинизированной монослойной клеточной линии почки свиньи, в перевиваемых культурах клеток БНК-21/SUSP/ARRIAH, IB-RS-2, ПСГК-30, а также в организме КРС и свиней изолята вируса ящура, выделенного в ФГБУ «ВНИИЗЖ» из патологического материала, отобранного от КРС на территории Иорданского Хашимитского Королевства в августе 2023 г. Штамм SAT-2/XIV/2023 депонирован во Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2023 г. и был предложен для изготовления вакцинных препаратов и средств диагностики [5, 6]. В связи с этим возникла необходи-

мость разработки иммуноферментной тест-системы, позволяющей максимально объективно и достоверно оценивать антигенные и иммуногенные свойства противоящурной вакцины на основе антигена вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023, а также иммунный фон и напряженность поствакцинального иммунитета у восприимчивых животных.

В данной статье описаны этапы разработки и испытания иммуноферментной тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта иммуноферментного анализа (ИФА) для оценки гуморального иммунитета против вируса ящура топотипа SAT2/XIV.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы сыворотки. Исследуемым материалом в ИФА служили экспериментальные образцы сыворотки крови КРС, свиней и белых мышей.

Получение иммуноспецифических реагентов. Антиген вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023 для получения иммуноспецифических компонентов реакции ИФА (антигена, улавливающих (сенсibilизирующих) и детекторных антител) выделяли из инактивированной вирусосодержащей суспензии культуры клеток БНК-21 по следующей схеме. На первом этапе антигенное сырье при низкоскоростном центрифугировании (Avanti J-26 XP; Beckman Coulter, США) в течение 30 мин освобождали от клеточного детрита. Надосадочную жидкость сливали и использовали для преципитации вирусного антигена в присутствии 8%-го полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 г/моль (ПЭГ 6000) и 0,85%-го NaCl в течение 18–20 ч при температуре $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$. Преципитированный антиген осаждали на центрифуге Avanti J-26 XP (Beckman Coulter, США) при 6000 об/мин и температуре 4°C в течение 60 мин. Надосадок удаляли, осадок ресуспендировали 1/500 от первоначального объема исходного сырья в фосфатно-буферном солевом растворе (ФБР) с pH 7,4. Затем полученную суспензию тщательно гомогенизировали с 50% хлороформа и фракционировали при 3000 об/мин, температуре 4°C в течение 15 мин на центрифуге Allegra X-22R Centrifuge (Beckman Coulter, США). Верхняя водная фракция являлась промежуточной субстанцией в виде концентрированного, частично очищенного антигена, обозначенной далее как преципитат антигена вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023 ($\text{Ag}_{\text{пл}}$ SAT2/XIV). Затем $\text{Ag}_{\text{пл}}$ SAT2/XIV фракционировали в ступенчатом градиенте плотности сахарозы, состоящем из последовательных слоев 20, 30, 40, 50% сахарозы в ФБР, на центрифуге Optima L-80 XP Ultracentrifuge (Beckman Coulter, США) при 24 000 об/мин, температуре 4°C в течение 3 ч.

Антигенные фракции анализировали спектрофотометрически при длине волны 260 нм и электрофоретическим разделением белковых молекул в полиакриламидном геле. Фракции 30–50%-й сахарозы, содержащие структурные белки VP1–VP3 (интактный антиген вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023, представляющий собой 146S-частицы), свободные от примесей либо включающие их в минимальном количестве, объединяли, обозначали как 146S-Ag SAT2/XIV и затем использовали для изготовления иммуноспецифических компонентов реакции жидкофазного блокирующего варианта ИФА (жБИФА): улавливающих и детекторных антител, антигена вируса ящура.

Кроликов и морских свинок иммунизировали двукратно 146S-Ag SAT2/XIV в дозе приблизительно 0,3 и 0,15 мг на голову соответственно. Антиген для введения смешивали с адъювантом ISA-206 в равных пропорциях. Обескровливание производили на 35 сут после первой вакцинации.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014, принятым Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Для подбора рабочих разведений компонентов реакции жБИФА, в том числе улавливающих и детекторных антител, антигена, иммунопероксидазного конъюгата вторичных антител кролика к IgG морской свинки, использовали стандартную панель образцов штаммоспецифической сыворотки крови свиней и КРС, включавшую как гомологичные, так и гетерологичные образцы, полученные на другие серотипы вируса ящура, а также нормальную сыворотку крови, отобранную от не вакцинированных против ящура животных.

Иммуноферментный анализ. Реакцию проводили согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) для жБИФА [1] и инструкции по применению набора для определения антител к структурным белкам вируса ящура в ИФА в соответствии с подобранной при разработке тест-системы оптимальной концентрацией иммуноспецифических реагентов. В работе также использовали диагностический набор на основе жБИФА для обнаружения антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2 (топотип SAT2/VII), выпускаемый в ФГБУ «ВНИИЗЖ», согласно инструкции по применению, а также коммерческий набор для обнаружения антител к вирусу ящура серотипа SAT 2 Solid-phase competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype SAT 2, далее SAT2-IZSLER (IZSLER & The Pirbright Institute, Италия/Великобритания), в соответствии с рекомендациями производителя.

Реакцию нейтрализации (РН) вируса ящура выполняли в перевиваемой линии клеток почки свиньи IB-RS-2 в соответствии с рекомендациями ВОЗЖ. Постановку РН осуществляли микрометодом с использованием 96-луночных плоскодонных культуральных планшетов. К двукратным разведениям исследуемых и контрольных образцов сыворотки крови на питательной среде Игла MEM добавляли примерно 10^2 ТЦД₅₀/0,05 см³ (тканевая цитопатическая доза вируса, вызывающая гибель 50% клеток) вируса, допустимый диапазон $10^{1,5}$ – $10^{2,5}$ ТЦД₅₀/0,05 см³. Инкубировали в течение 1 ч при температуре 37 °С в присутствии 5% CO₂, затем в каждую лунку планшета вносили по 0,05 см³ суспензии культуры клеток IB-RS-2 в концентрации 10^6 кл/см³, инкубировали в тех же условиях в течение 48–78 ч. Реакцию учитывали по мере развития цитопатического действия (ЦПД) вируса в контрольных лунках с зараженной культурой клеток без сыворотки крови от исследуемых животных. За титр вируснейтрализующих антител (ВНА) принимали последнее разведение сыворотки, тормозящее на 50% ЦПД вируса [1].

Выравнивание аминокислотных последовательностей. Выравнивание аминокислотных последовательностей белка VP1 вируса ящура разных топотипов SAT 2 выполняли согласно информации, полученной из GenBank NCBI и базы данных ФГБУ «ВНИИЗЖ»: SAT2/ETH/2/2022 (GenBank: WKE35517.1); SAT2/JOR/11/2023 (GenBank: WUR05443.1); SAT-2/XIV/2023 (база данных ФГБУ «ВНИИЗЖ»); SAT2/ETH/2/91 (GenBank: WKE35516.1); SAT2/ERI/4/98 (GenBank: AAR09103.1); SAT2/LIB/39/2012 (GenBank: AFU55195.1); SAT2/EGY/Ismailia/2018 (GenBank: QZE50286.1); SAT2/EGY/Beni-Suef-2/2018 (GenBank: QEI49588.1); SAT2/EGY/Dakahlia/2017 (GenBank: AXR97922.1) [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

Электрофорез в полиакриламидном геле. Электрофоретическое разделение белков в полиакриламидном геле проводили, как описано ранее [15, 16].

Статистический анализ производили с помощью интернет-ресурсов, в том числе MedCalc's Diagnostic test evaluation calculator (https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php), Kappa Calculator (<https://www.easycalculation.com/statistics/cohens-kappa-index.php>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ.

Эффективность вакцины, иммунный фон и напряженность противоящурного иммунитета у восприимчивых животных оценивается по уровню специфических вируснейтрализующих (защитных) антител в сыворотке крови животных после вакцинации или инфицирования. В лабораторной диагностике используют два основных метода исследования образцов сыворотки крови на наличие антител к структурным белкам вируса ящура: РН и ИФА [1, 2, 17, 18, 19].

Разработанная иммуноферментная тест-система, предназначенная в первую очередь для оценки антигенной и иммуногенной активности противоящурной вакцины, включающей антиген вируса ящура генотипа SAT2/XIV, основана на реакции жБИФА. Данный вариант ИФА, рекомендованный ВОЗЖ как один из основных методов ретроспективной диагностики ящура для контроля иммуногенности противоящурных вакцин, оценки напряженности иммунитета, мониторинговых исследований на ящур, был адаптирован под условия ФГБУ «ВНИИЗЖ», оптимизирован и модифицирован. Неоспоримым достоинством жБИФА является тот факт, что образование комплекса «антиген – антитело» происходит в жидкой фазе, то есть в условиях, максимально приближенных к естественным. При этом не возникает деформации вириона и не изменяются антигенные сайты, что роднит его с реакцией вирусной нейтрализации в культуре клеток или куриных эмбрионах [1, 17, 18, 19].

При создании тест-систем для диагностики ящура разработчики стремятся к серотипоспецифичности ИФА. Действительно, в пределах серотипа вирус ящура разных генетических линий, как правило, обнаруживает серологическое родство. Однако при обследовании первично вакцинированного молодняка тест-системы для обнаружения антител к вирусу ящура определенного серотипа разных производителей могут демонстрировать штаммовую/генотипическую специфичность. Это имеет огромное значение при оценке антигенной и иммуногенной активности противоящурной вакцины. Следует тщательно подбирать инструмент для получения наиболее объективной и достоверной информации.

Изолят вируса ящура	Топотип	Локация	Аминокислотная последовательность
SAT2/ETH/2/2022	XIV	1	ttsagegadav vtldptthgg aarptrrvht dvafldrst hvhtnktffn idlmdtkeka
SAT2/JOR/11/2023	XIV	1	-----
SAT2/XIV/2023	XIV	1	-----
SAT2/ETH/2/91	XIV	1	----- svt-a-i- -----
SAT2/ERI/4/98	VII	1	----- -t-s- nvqeg-k- e- ----- s-v v- -k-
SAT2/LIB/39/2012	VII	1	----- -t-s- nvqeg-k- e- ----- g-s-v v- -k-
SAT2/EGY/Ismalia/2018	VII	1	----- -t-s- nvqeg-k- e- ----- g-s-v v- -n-
SAT2/EGY/Beni-Suef-2/2018	VII	1	----- -t-s- nvqeg-k- e- ----- g-s-v v- -n-
SAT2/EGY/Dakahlia/2017	VII	1	----- -t-s- nvqeg-k- e- ----- g-s-v v- -n-
SAT2/ETH/2/2022	XIV	61	lvgaillrsat yfcdleiac vgdhkrvwyq pngapratql gdnpmvfshn rvtrfaipyt
SAT2/JOR/11/2023	XIV	61	-----
SAT2/XIV/2023	XIV	61	-----
SAT2/ETH/2/91	XIV	61	----- -e- f- -t- -y- g-
SAT2/ERI/4/98	VII	61	----- -as- ----- -t- f- -t- -yakg g- -f-
SAT2/LIB/39/2012	VII	61	----- -as- ----- -t- f- -t- -p- -akg g- -f-
SAT2/EGY/Ismalia/2018	VII	61	----- -as- ----- -e- t- f- -t- -akg g- -f-
SAT2/EGY/Beni-Suef-2/2018	VII	61	----- -as- ----- -e- t- f- -t- -akg g- -f-
SAT2/EGY/Dakahlia/2017	VII	61	----- -as- ----- -e- t- f- -t- -akg g- -f-
SAT2/ETH/2/2022	XIV	121	aphrlstvy ngectynkss tairgdravl vakyadnkt lpstfnfghv tadapvvy
SAT2/JOR/11/2023	XIV	121	-----
SAT2/XIV/2023	XIV	121	-----
SAT2/ETH/2/91	XIV	121	----- -d-k-a- ----- a- -nk-
SAT2/ERI/4/98	VII	121	----- -t-ta- ----- a- -v-
SAT2/LIB/39/2012	VII	121	----- -d- -t- ----- a- -t-
SAT2/EGY/Ismalia/2018	VII	121	----- -v-k- as- ----- a- -st-
SAT2/EGY/Beni-Suef-2/2018	VII	121	----- -v-t- as- ----- a- -st-
SAT2/EGY/Dakahlia/2017	VII	121	----- -v-k- as- ----- a- -st-
SAT2/ETH/2/2022	XIV	181	rmkraelycp rallpaynha grdrfdapig vekql
SAT2/JOR/11/2023	XIV	181	-----
SAT2/XIV/2023	XIV	181	-----
SAT2/ETH/2/91	XIV	181	----- -d- v- ----- -r-
SAT2/ERI/4/98	VII	181	----- -p- -d- s- ----- -rqt1
SAT2/LIB/39/2012	VII	181	----- -p- -t- d- ----- -r-
SAT2/EGY/Ismalia/2018	VII	181	----- -p- -d- ----- -r-
SAT2/EGY/Beni-Suef-2/2018	VII	181	----- -p- -d- -y- ----- -r-t
SAT2/EGY/Dakahlia/2017	VII	181	----- -p- -e- s- ----- -r-t

Рис. 1. Аминокислотные последовательности полипептида VP1 вируса ящура серотипа SAT 2 топотипов XIV и VII из баз данных NCBI и ФГБУ «ВНИИЗЖ» (до 216 а. о.), красным цветом выделена зона G-H loop

Fig. 1. Amino acid sequences of VP1 polypeptide of serotype SAT 2 toptotype XIV and VII FMDV obtained from NCBI and Federal Centre for Animal Health databases (up to 216 a.r.), G-H loop area is highlighted in red

Ранее в ФГБУ «ВНИИЗЖ» были созданы две тест-системы для оценки гуморального иммунитета к вирусу ящура серотипа SAT 2 топотипа VII на основе штаммов SAT2/LIB/39/2012 и SAT2/ERI/98, показавшие высокую степень родства и, как следствие, взаимозаменяемость [3]. Предполагалось, что данные тест-системы смогут обеспечить полноценный контроль в ИФА эффективности вакцины, включающей антиген нового штамма вируса ящура. Были проанализированы данные по генетическому и серологическому соответствию штаммов и изолятов вируса ящура VII и XIV топотипов серотипа SAT 2, рассмотрена целесообразность разработки новой тест-системы для ящура, индуцированного возбудителем серотипа SAT 2 топотипа XIV.

Для выявления генетического родства (гомологии) между топотипами VII и XIV проводили сравнение аминокислотных последовательностей белка VP1 вируса ящура серотипа SAT 2. Как видно на рисунке 1, вакцинный штамм вируса ящура SAT-2/XIV/2023 имел 100%-ю степень гомологии с изолятом вируса ящура, выделенным на территории Иорданского Хашимитского Королевства в 2023 г. (SAT2/JOR/11/2023), в аминокислотной последовательности полипептида VP1. Оба вируса отличались от изолята SAT2/ETH/2/2022, выделенного в Эфиопии в 2022 г., одной аминокислотной заменой в области G-H loop и 20 заменами от другого эфиопского изолята SAT2/ETH/2/91.

Данные вирусы относятся к топотипу XIV серотипа SAT 2 и имеют значительные различия с изолятами вируса ящура серотипа SAT 2 топотипа VII, что непосредственно отражается на антигенном соответствии штаммов вируса ящура серотипа SAT 2, относящихся к разным топотипам. Филогенетическое дерево вируса ящура серотипа SAT 2 на рисунке 2, основанное на

сравнении нуклеотидных последовательностей гена VP1, наглядно демонстрирует топотипические (генотипические) различия между штаммами вируса.

При изучении антигенного соответствия вакцинного штамма SAT-2/XIV/2023 (топотип XIV) штаммам вируса ящура SAT2/LIB/39/2012 (топотип VII) и SAT2/ERI/98

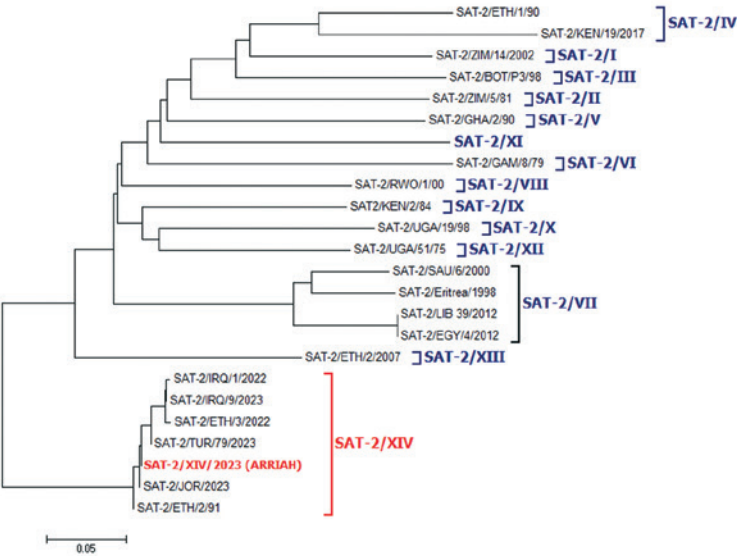


Рис. 2. Расположение штамма SAT-2/XIV/2023 на филогенетическом дереве вируса ящура серотипа SAT 2. Дендрограмма основана на сравнении нуклеотидных последовательностей гена VP1. Топотипы I–XIV выделены квадратными скобками

Fig. 2. Location of SAT-2/XIV/2023 strain on serotype SAT 2 FMDV phylogenetic tree. The dendrogram is based on the comparison of VP1 gene nucleotide sequences. Topotypes I–XIV are in square brackets

Таблица 1

Антигенное родство между штаммами вируса ящура серотипа SAT 2 в реакции нейтрализации, r_1

Table 1

Antigenic relatedness of subtype SAT 2 FMDV strains determined in the virus neutralization test, r_1

Образцы сыворотки крови	$r_{1\text{сред.}}$ в реакции нейтрализации вируса ящура*		
	SAT2/LIB/39/2012	SAT2/ERI/98	SAT-2/XIV/2023
SAT2/LIB/39/2012	1,0	0,36	0,06
SAT2/ERI/98	0,69	1,0	0,16
SAT-2/XIV/2023	0,14	0,16	1,0

* $r_1 \geq 0,3$ – близкое родство (close relatedness); $r_1 < 0,3$ – низкое родство (low relatedness).

(топотип VII) при постановке РН в культуре клеток IB-RS-2 была установлена низкая степень родства между штаммами разных топотипов – 0,06–0,16. При этом штаммы SAT2/LIB/39/2012 и SAT2/ERI/98 демонстрировали близкое родство между собой – 0,36 и 0,69 соответственно (табл. 1), – что свидетельствовало о хоро-

шей перекрестной защите между данными вирусами ящура.

Таким образом, при разработке иммуноферментной тест-системы для оценки антигенности и иммуногенности вакцины против ящура, индуцированного вирусом топотипа SAT2/XIV, был выбран производственный штамм SAT-2/XIV/2023.

Особое внимание при получении специфических реагентов жБИФА для обнаружения антител к структурным белкам вируса ящура топотипа SAT2/XIV было уделено выделению 146S-компонента из инактивированной вирусосодержащей суспензии культуры клеток ВНК-21 (146S-Ag SAT2/XIV). Это интактный антиген с коэффициентом седиментации 146S, то есть антиген с неизменной структурой, представляющий собой вирионы, потерявшие в процессе инактивации свою инфекционность. Данный антиген является капсидом с заключенной в нем инактивированной РНК. Целостность капсида обеспечивает иммуногенность противоящурной вакцины, так как поверхностные полипептиды VP1–VP3 продуцируют выработку вируснейтрализующих штаммо/серотипоспецифических антител. Применение высокоочищенного 146S-антигена в реакции

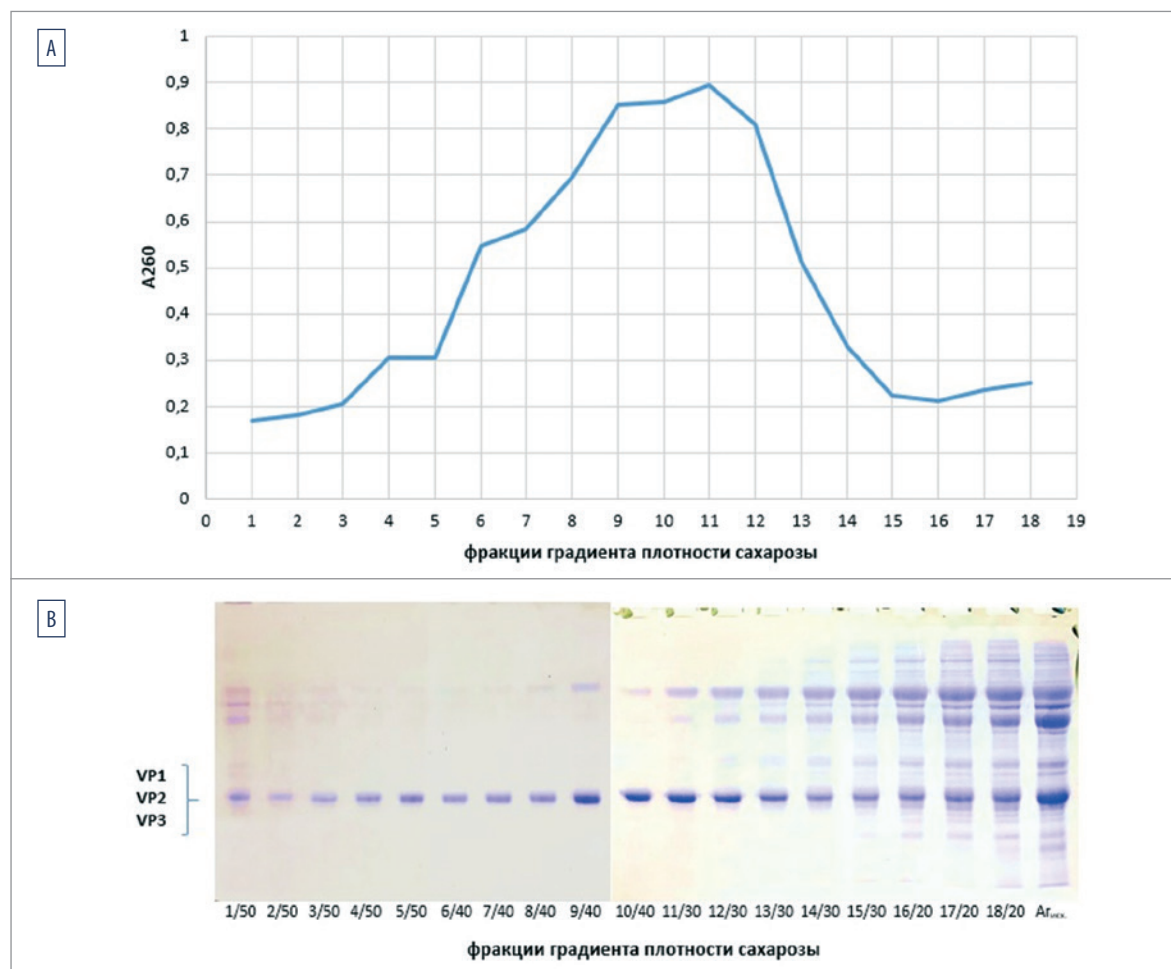


Рис. 3. Выделение 146S-Ag SAT2/XIV в ходе фракционирования $Ag_{\text{пц}}$ SAT2/XIV при ультрацентрифугировании в градиенте плотности сахарозы: А – седиментационный профиль $Ag_{\text{пц}}$ SAT2/XIV при длине волны 260 нм в разведении 1:10; В – электрофореграмма фракций градиента плотности сахарозы, включающих структурные белки VP1, VP2, VP3 вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023

Fig. 3. Isolation of 146S-Ag SAT2/XIV during fractionation of SAT2/XIV $Ag_{\text{precipitate}}$ using sucrose gradient ultracentrifugation: A – sedimentation profile of SAT2/XIV $Ag_{\text{precipitate}}$ with wavelength 260 nm at 1:10 dilution; B – electrophoregram of sucrose gradient fractions, including structural proteins VP1, VP2, VP3 of SAT-2/XIV/2023 FMDV strain

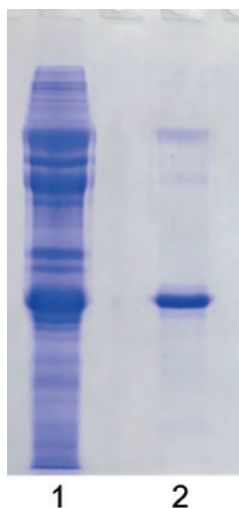


Рис. 4. Электрофорез в 12%-м полиакриламидном геле антигена вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023: 1 – Ag_{пц} SAT2/XIV до фракционирования ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы; 2 – 146S-Ag SAT2/XIV

Fig. 4. 12% polyacrylamide gel electrophoresis of SAT-2/XIV/2023 FMDV antigen: 1 – SAT2/XIV Ag_{precipitate} before fractionation by sucrose gradient ultracentrifugation; 2 – 146S-Ag SAT2/XIV

ИФА при проведении стадии «жидкая фаза», в ходе которой формируется иммунный комплекс со специфическими антителами в исследуемом образце, а также для иммунизации кроликов и морских свинок при производстве улавливающих (сенсibiliзирующих) и детекторных антител соответственно позволяет определять уровень гуморального иммунитета против ящура с максимально возможной достоверностью.

Использование в реакции ИФА антигенов с более низкой степенью очистки – частично очищенного антигена (антигенного преципитата) или антигеносодержащей клеточной суспензии, характеризующихся наличием балластных белков в виде остатков клеточного детрита и сывороточного альбумина, – может привести к искажению результатов реакции.

При фракционировании антигена ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы 20–50% основная масса 146S-частиц скапливалась на границе раздела 30 и 40% слоев сахарозы в виде опалесцирующей полосы. Отобранные по 1 мл фракции градиента анализируются спектрофотометрически при длине волны 260 нм для построения седиментационного профиля Ag_{пц} SAT2/XIV (рис. 3А) и при электрофоретическом разделении белковых молекул в 12%-м полиакриламидном геле (рис. 3В).

Для 146S-антигена отбирали фракции с наибольшим накоплением структурных полипептидов VP1–VP3 и наименьшим содержанием/отсутствием примесей. В результате после объединения фракций получили 146S-Ag SAT2/XIV с концентрацией белка примерно 0,55 мг/мл. На рисунке 4 изображена электрофореграмма антигена вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023 в 12%-м полиакриламидном геле до и после фракционирования ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы.

Полученный 146S-Ag SAT2/XIV использовали для изготовления иммуноспецифических компонентов ре-

акции жБИФА: улавливающих и детекторных антител, антигена вируса ящура.

Тест-система для определения антител к структурным белкам вируса ящура топотипа SAT2/XIV при использовании иммуноспецифических реагентов в следующих рабочих разведениях: улавливающие антитела – 1:1000, детекторные антитела – 1:5000, антиген вируса ящура – 1:1000, или 0,55 мкг/мл, коммерческий антивидовой конъюгат – 1:1500, или 0,75 мкг/мл, – продемонстрировала специфичность и чувствительность при определении статуса обследуемых животных.

При интерпретации результатов реакции ИФА необходимо установить критерии качественной оценки, для чего определяется cut-off – точка отсеечения, позитивно-негативный порог (ПНП), позволяющий квалифицировать исследуемые образцы биоматериала как положительные или отрицательные в отношении конкретного инфекционного агента.

В разработанной тест-системе SAT2/XIV-ВНИИЗЖ в основу качественного анализа результатов реакции

Таблица 2

Результаты исследования в ИФА и РН образцов сыворотки крови КРС, вакцинированного против ящура, индуцированного возбудителем топотипа SAT2/XIV (сорбированная моновалентная вакцина)

Table 2

ELISA and virus neutralizing test results of serum samples collected from cattle vaccinated against SAT2/XIV FMD (adsorbed monovalent vaccine)

Образцы сыворотки крови	Доза вакцины	Тест-система			
		SAT2/XIV-ВНИИЗЖ PI _{pos} ≥ 50%, pos/n	SAT2/VII-ВНИИЗЖ PI _{pos} ≥ 50%, pos/n	SAT2-IZSLER PI _{pos} ≥ 70%, pos/n	SAT2/XIV-PH T _{pos} BHA ≥ 5 log ₂ , pos/n
S _{КРС} 0 dpv	до вакцинации	0/16	0/16	0/16	0/16
S _{КРС} 3 dpv	цельная	0/5	0/5	0/5	0/5
	1/4	0/5	0/5	0/5	0/5
	1/16	0/5	0/5	0/5	0/5
	контроль	0/1	0/1	0/1	0/1
S _{КРС} 7 dpv	цельная	1/5	0/5	0/5	0/5
	1/4	1/5	0/5	0/5	0/5
	1/16	1/5	1/5	0/5	0/5
	контроль	0/1	0/1	0/1	0/1
S _{КРС} 14 dpv	цельная	5/5	4/5	3/5	3/5
	1/4	4/5	2/5	1/5	3/5
	1/16	2/5	1/5	0/5	1/5
	контроль	0/1	0/1	0/1	0/1
S _{КРС} 21 dpv	цельная	5/5	4/5	3/5	4/5
	1/4	4/5	1/5	1/5	2/5
	1/16	2/5	1/5	0/5	1/5
	контроль	0/1	0/1	0/1	0/1

S_{КРС} – сыворотки крови КРС (bovine sera); PI – процент ингибции (inhibition percent); T_{pos} BHA – положительный (защитный) титр вируснейтрализующих антител (positive (protective) titre of virus neutralizing antibodies); pos/n – количество положительно реагирующих особей к общему количеству животных в группе (number of positive reactors against total number of the animals in the group); dpv – дни после вакцинации (day post vaccination).

ИФА заложен ПНП в 50% PI (процент ингибиции) [1]. Расчет производили по данным, полученным в ходе тестирования 176 образцов сыворотки крови от клинически здоровых КРС и свиней, не вакцинированных против ящура. Были получены среднее значение PI и стандартное отклонение от среднего (SD). Среднее значение PI по данной выборке образцов сыворотки крови ($n = 176$) составило 21,09%, SD – 14,67%. Позитивно-негативный порог, рассчитанный по формуле $ПНП = PI_{\text{сред}} + 2SD$, равнялся 50,43%.

Таким образом, значение ПНП для качественной характеристики образцов сыворотки крови, исследуемых в предлагаемой тест-системе на наличие антител к вирусу ящура топотипа SAT2/XIV, соответствовало прогнозируемому в 50% PI, что свидетельствовало об оптимальном выборе рабочих разведений иммуноспецифических компонентов, определяющих точность и объективность анализа.

Испытания тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ. Испытания иммуноферментной тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ проводили в ходе проверки антигенности и иммуногенности моновалентной сорбированной вакцины против ящура SAT2/XIV в сравнении с другими тест-системами для диагностики ящура, вызванного вирусом серотипа SAT 2 (табл. 2). Для этого 15 бычков черной-пестрой породы однократно иммунизировали вакциной в разных дозах (цельная, 1/4 и 1/16 от цельной дозы) по 5 особей на каждую дозу вакцины. Одно контрольное животное не вакцинировали. Кровь для исследования в ИФА и РН отбирали у всех животных на 0, 3, 7, 14, 21-й день после введения вакцины против ящура, вызванного возбудителем топотипа SAT2/XIV. Образцы сыворотки крови проверяли на наличие антител к вирусу ящура серотипа SAT 2 с помощью иммуноферментных тест-систем: SAT2/XIV-ВНИИЗЖ на основе штамма SAT-2/XIV/2023; SAT2/VII-ВНИИЗЖ на основе штамма SAT2/LIB/39/2012; SAT2-IZSLER – и в реакции нейтрализации вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023.

Таблица 3
Результаты исследования в ИФА образцов сыворотки крови белых мышей, иммунизированных сорбированной моновалентной вакциной против ящура, вызванного вирусом топотипа SAT2/XIV

Table 3
ELISA results of serum samples collected from white mice immunized with an adsorbed monovalent vaccine against SAT2/XIV FMDV

Образцы сыворотки крови	Доза вакцины	Тест-система		
		SAT2/XIV-ВНИИЗЖ $PI_{\text{pos}} \geq 50\%$	SAT2/VII-ВНИИЗЖ $PI_{\text{pos}} \geq 50\%$	SAT2-IZSLER $PI_{\text{pos}} \geq 70\%$
$S_{\text{мыши}}$ 14 dpv	цельная	67,5%	64,4%	30,6%
	1/4	64,9%	50,1%	14,9%
	1/16	21,1%	5,9%	22,3%
$S_{\text{мыши}}$ 21 dpv	цельная	71,6%	65,3%	32,5%
	1/4	63,5%	48,0%	43,7%
	1/16	12,5%	1,7%	1,8%
	контроль	6,1%	0,35%	2,4%

$S_{\text{мыши}}$ – сыворотки крови белых мышей (white mouse sera); PI – процент ингибиции (inhibition percent); dpv – дни после вакцинации (day post vaccination); жирным шрифтом выделены положительные значения PI (positive PI values are in bold).

Как видно из таблицы 2, эффективность тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ в регистрации выработки специфических антител была выше, чем у других рассматриваемых тест-систем. Уже на 7-е сут было выявлено по одной серопозитивной особи в трех группах вакцинированного КРС, а в тест-системе SAT2/VII-ВНИИЗЖ – одно положительно реагирующее животное. В двух других реакциях специфические антитела обнаруживали только на 14-е сут. В результате количество положительно реагирующих животных, установленное в ИФА и РН на 14–21-й день после введения разных доз вакцины, составило: в SAT2/XIV-ВНИИЗЖ – 22/30 (73,3%), SAT2/VII-ВНИИЗЖ – 13/30 (43,3%), SAT2-IZSLER – 8/30 (26,7%), SAT2/XIV-PH – 14/30 (46,7%), – что свидетельствовало о неоспоримом преимуществе в диагностической чувствительности тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ.

Экспериментальная вакцина с сапонином, содержащая инактивированный вирус ящура штамма SAT-2/XIV/2023, также вызвала гуморальный ответ при введении белым лабораторным мышам. Животные массой 24–26 г однократно иммунизировали вакциной в разных дозах (цельная, 1/4 и 1/16 от цельной дозы) по 0,4 см³ на голову (по 13 особей на каждую дозу вакцины). Одиннадцать контрольных мышей не вакцинировали. Кровь отбирали пулами на 14 и 21-е сут после вакцинации. Результаты представлены в таблице 3. Как и в опыте с КРС, тест-система SAT2/XIV-ВНИИЗЖ демонстрировала большую чувствительность по сравнению с другими тест-системами для топотипа SAT2/VII.

Вакцина, содержащая антиген вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023, а также диагностический набор SAT2/XIV-ВНИИЗЖ для сопровождения вакцины были испытаны в полевых условиях, а именно в Иордании. По информации, предоставленной иорданской стороной, и моновалентная сорбированная вакцина против ящура, индуцированного вирусом топотипа SAT2/XIV, и гомологичная тест-система для оценки эффективности вакцинации производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» демонстрировали убедительные результаты антигенной активности вакцины после двукратной прививки КРС. У всех вакцинированных животных (10 гол.) обнаруживали защитный уровень антител с $PI_{\text{сред}} = 84,58 \pm 12,56$, в то время как у невакцинированного контроля (2 гол.) установлено отсутствие антител к вирусу ящура топотипа SAT2/XIV ($PI_{\text{сред}} = 35,34 \pm 2,21$).

Для подтверждения объективности данных ИФА тестировали 163 образца сыворотки крови свиней и КРС с использованием следующих тест-систем: SAT2/XIV-ВНИИЗЖ, SAT2/VII-ВНИИЗЖ, SAT2-IZSLER. Результаты параллельных исследований сывороток крови до и после вакцинации цельной дозой против ящура, вызванного возбудителями топотипов SAT2/XIV (вакцина на основе штамма SAT-2/XIV/2023) и SAT2/VII (вакцины на основе штаммов SAT2/LIB/39/2012 и SAT2/ERI/98), а также после заражения вирусом ящура штамма SAT2/ERI/98 представлены в таблице 4.

Как показывает анализ полученных данных, тест-системы демонстрировали выраженную топотипоспецифичность при тестировании данной выборки образцов. Сыворотки крови КРС против антигена вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023 при использовании тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ имели положительный статус в 100% случаев, в реакции ИФА SAT2/VII-ВНИИЗЖ и SAT2-IZSLER – в 80 и 60% случаев соответственно. В то время как серопозитивность

Таблица 4
Результаты исследования в ИФА образцов сыворотки крови КРС и свиней до и после вакцинации против ящура, индуцированного возбудителем серотипа SAT 2, и заражения

Table 4
ELISA results of serum samples collected from cattle and pigs before and after vaccination against serotype SAT 2 FMD and challenge

Образцы сыворотки крови	Тест-система								
	SAT2/XIV-ВНИИЗЖ PI _{pos} ≥ 50%			SAT2/VII-ВНИИЗЖ PI _{pos} ≥ 50%			SAT2-IZSLER PI _{pos} ≥ 70%		
	PI _{сред.}	pos/n	SP, %	PI _{сред.}	pos/n	SP, %	PI _{сред.}	pos/n	SP, %
S _{свин.} 0 dpv	23,2	0/16	—	13,9	0/16	—	22,3	0/16	—
S _{КРС} 0 dpv	25,1	0/37	—	30,3	0/37	—	20,2	0/37	—
S _{свин.} 16–28 dpv SAT2/LIB/39/2012	68,2	28/30	93,3	83,7	29/30	96,7	90,2	29/30	96,7
S _{КРС} 14–35 dpv SAT2/LIB/39/2012	70,1	14/15	93,3	89,5	15/15	100,0	87,6	15/15	100,0
S _{КРС} 21–45 dpv/dpi SAT2/ERI/98	59,5	23/35	65,7	80,3	27/35	77,1	89,1	29/35	82,9
S _{КРС} 14–21 dpv SAT-2/XIV/2023	76,8	30/30	100,0	63,8	24/30	80,0	72,6	18/30	60,0

S_{КРС} – сыворотки крови КРС (bovine sera); S_{свин.} – сыворотки крови свиней (porcine sera); PI – процент ингибции (inhibition percent); pos/n – количество положительно реагирующих особей к общему количеству животных в группе (number of positive reactors against total number of the animals in the group); SP – серопозитивность [количество положительно реагирующих животных] (seropositivity [number of positive reactors]); dpv/dpi – дни после вакцинации/заражения (day post vaccination/infection).

животных в отношении вируса ящура серотипа SAT2 топотипа VII в тест-системах SAT2/VII-ВНИИЗЖ и SAT2-IZSLER была установлена на уровне 91,27 и 93,2% соответственно, в тест-системе SAT2/XIV-ВНИИЗЖ – на уровне 84,1%.

Определение диагностических характеристик тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ. При валидации SAT2/XIV-ВНИИЗЖ такие основные диагностические характеристики, как чувствительность, специфичность, точность и κ-критерий, определяли, как описано ранее [20]. В таблице 5 приведены данные статистической обработки результатов тестирования в ИФА 301 образца сыворотки крови, полученного от невакцинированного и вакцинированного против ящура, вызванного вирусом топотипа SAT2/XIV КРС.

Как видно из полученных результатов, значения диагностической чувствительности в 90%, диагностической специфичности в 98%, диагностической точности в 95% иммуноферментной тест-системы SAT2/XIV-ВНИИЗЖ определили высокую степень согласованности результатов реакции ИФА с известным диагностическим статусом обследуемых животных (κ-критерий – 0,896).

В настоящее время достоверно известно лишь об одной представленной на мировом рынке наборов для ретроспективной диагностики ящура тест-системе, позволяющей обнаруживать антитела к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2 в ИФА. Это набор Solid-phase competitive ELISA for antibodies specific to FMDV serotype SAT 2 производства IZSLER & The Pirbright Institute (Италия/Великобритания) [21].

Использование моноклональных антител в диагностических иммуноферментных тест-системах для серотипирования возбудителя ящура обуславливает универсальность анализа внутри конкретного серотипа вируса ящура (возможность с одинаковой чувствительностью обнаружения в исследуемых образцах антител к разным штаммам вируса ящура одного серотипа), то есть тест-система должна обладать широкой серотипо-специфичностью.

Однако в случае с тест-системой SAT2-IZSLER наблюдалась выраженная топотипоспецифичность. При исследовании с помощью SAT2-IZSLER образцов моноспецифической сыворотки крови КРС или свиней к вирусу ящура топотипов SAT2/VII и SAT2/XIV наибольшее количество положительных результатов было получено для образцов сыворотки к топотипу SAT2/VII, в то время как антитела к топотипу SAT2/XIV выявлялись с меньшей эффективностью, чем в тест-системе SAT2/XIV-ВНИИЗЖ. Это свидетельствует о том, что использование набора SAT2-IZSLER для изучения антигенной и иммуногенной активности противоящурной вакцины, включающей антиген вируса ящура штамма SAT-2/XIV/2023,

Таблица 5
Диагностические характеристики тест-систем для обнаружения антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2, определенные для топотипа SAT2/XIV

Table 5
Diagnostic parameters of the test systems for detecting antibodies to SAT 2 FMDV structural proteins, defined for the SAT2/XIV topotype

Используемые тест-системы	Диагностические характеристики (n = 301), значение (95%-й доверительный интервал)			
	чувствительность	специфичность	точность	κ-критерий*
SAT2/XIV-ВНИИЗЖ	90,24% (83,58–94,86%)	98,31% (95,15–99,65%)	95,02% (91,91–97,18%)	0,896
SAT2/VII-ВНИИЗЖ	55,0% (41,6–67,9%)	98,1% (89,9–100,0%)	75,2% (66,2–82,9%)	0,516
SAT2-IZSLER	40,0% (27,6–53,5%)	100,0% (93,3–100,0%)	68,1% (58,7–76,6%)	0,385

* κ-критерий – согласованность результатов тестирования индивидуальных образцов сыворотки крови в ИФА с диагностическим статусом животных (consistency between ELISA test results of individual serum samples and the animals' diagnostic status): < 0 – нет согласованности (no consistency); 0–0,20 – незначительная (insignificant); 0,21–0,40 – слабая (low); 0,41–0,60 – умеренная (moderate); 0,61–0,80 – значительная (significant); 0,81–1,00 – высокая (high).

не позволяет дать объективную и достоверную оценку эффективности вакцины методом ИФА. Таким образом, иммуноферментная тест-система для оценки гуморального иммунитета против вируса ящура топоти-па SAT2/XIV, имеющая 100%-ю степень гомологии с вакцинным штаммом, обладающая высокими диагностическими показателями, является незаменимым, безальтернативным на данный момент инструментом оценки качества вакцины в ИФА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная тест-система на основе жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антител к структурным белкам вируса ящура топоти-па SAT2/XIV является специфичной и чувствительной. Уникальность тест-системы состоит в 100%-й степени гомологии с вакцинными продуктами, что позволяет максимально достоверно и эффективно оценивать антигенные и иммуногенные свойства противоящурной вакцины при ее производстве и последующем применении после введения животным. При испытаниях данная тест-система характеризовалась высокими значениями диагностической чувствительности (90%), диагностической специфичности (98%), диагностической точности (95%), что определяло высокую степень согласованности результатов реакции ИФА с известным диагностическим статусом обследуемых животных (к-критерий – 0,896).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 13th ed. 2024. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm
2. Феррари Д., Пейтон Д., Дюффи С., Бартелс К., Найт-Джонс Т. Вакцинация против ящура и поствакцинальный мониторинг: руководство. Под ред. С. Метвалли, С. Мюнстерманн. Рим: FAO, ВОЗЖ; 2020. 88 с. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/5975ru>
3. Луговская Н. Н., Силантьева Е. А., Михалишин Д. В., Мороз Н. В., Малигин М. П., Харитонов А. А. и др. Диагностическая тест-система для выявления антител к структурным белкам вируса ящура генотипа SAT2/VII в жидкофазном блокирующем варианте ИФА. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2023; (4): 43–52. <https://doi.org/10.24412/2074-5036-2023-4-43-52>
4. ProMED, International society for infectious diseases. <https://promedmail.org/promed-post/?id=20230204.8708168>
5. Михалишин Д. В., Доронин М. И., Чвала И. А., Борисов А. В., Харитонов А. А., Гочмурадов Ы. М. и др. Вакцина против ящура генотипа SAT-2/XIV из штамма «SAT-2/XIV/2023» культуральная инактивированная эмульсионная. Патент № 2824660 Российская Федерация, МПК А61К 39/135 (2006.01). ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных». № 2024108919. Заявл. 03.04.2024. Оpubl. 12.08.2024. Бюл. № 23.
6. Никифоров В. В., Доронин М. И., Борисов А. В., Чвала И. А., Михалишин Д. В., Фомина С. Н. и др. Штамм «SAT-2/XIV/2023» вируса ящура *Aphtae epizooticae* генотипа SAT-2/XIV для изготовления биопрепаратов для диагностики и специфической профилактики ящура. Патент № 2817257 Российская Федерация, МПК C12N 7/00 (2006.01). ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных». № 2023123055. Заявл. 04.09.2023. Оpubl. 12.04.2024. Бюл. № 11.
7. Knowles N. J., Wadsworth J., Hicks H. M., Polo N., Mioulet V., Gizaw D., King D. P. Genome sequences of SAT 2 foot-and-mouth disease viruses belonging to toptotype XIV. Submitted (28-FEB-2023) Vesicular Disease Reference Laboratory Group, The Pirbright Institute, United Kingdom. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WKE35516.1>
8. Knowles N. J., Wadsworth J., Hicks H. M., Polo N., Mioulet V., Gizaw D., King D. P. Genome sequences of SAT 2 foot-and-mouth disease viruses belonging to toptotype XIV. Submitted (28-FEB-2023) Vesicular Disease Reference Laboratory Group, The Pirbright Institute, United Kingdom. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WKE35517.1>
9. Abualghusein I. H. M., Ababneh M. M. K., Al-Zghoul M. B., Alghizzawi D. A. A., Aboomer H. A. A. Submitted (07-JAN-2024) Basic Veterinary Science, Jordan University of Science and Technology, Jordan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WUR05443.1>
10. Sahle M., Venter E. H., Dwarka R. M., Vosloo W. Genetic heterogeneity of SAT-2 type foot-and-mouth disease viruses in East Africa. Submitted (17-JUL-2003) Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, South Africa. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAR09103>
11. Ahmed H. A., Salem S. A. H., Habashi A. R., Arafa A. A., Aggour M. G. A., Salem G. H., et al. Emergence of foot-and-mouth disease virus SAT 2 in Egypt during 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2012; 59 (6): 476–481. <https://doi.org/10.1111/tbed.12015>

12. Hassan A. M., El-Mayet F. S., El-Habbaa A. S., Shahein M. A., El Zowalaty M. E., Hagag N. M., Sharawi S. S. A. Molecular characterization of newly emerging foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2 of Lib-12 lineage isolated from Egypt. *Virus Research*. 2022; 311: 198651. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198651>
13. Hosen H. I., Roubay S. R., Hendy K. Submitted (23-MAY-2019) Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Egypt. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/QEI49588.1>
14. Abdulrahman D. A., Shaheen M. A., El-Deeb A. H., Shafik N. G., Hussein H. A. Characterization of FMDVs from vaccinated cattle and buffaloes in Egypt 2015–2017. Submitted (20-NOV-2017) Virology, Animal Health Research Institute (AHRI), Egypt. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AXR97922.1>
15. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227: 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
16. Lugovskaya N. N., Scherbakov A. V., Yakovleva A. S., Tsyvanyuk M. A., Mudrak N. S., Drygin V. V., Borisov A. V. Detection of antibodies to avian infectious virus by a recombinant nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Virological Methods*. 2006; 135 (2): 292–296. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.03.019>
17. Hamblin C., Barnett I. T. R., Hedger R. S. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: I. Development and method of ELISA. *Journal of Immunological Methods*. 1986; 93 (1): 115–121. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90441-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90441-2)
18. Hamblin C., Barnett I. T. R., Crowther J. R. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: II. Application. *Journal of Immunological Methods*. 1986; 93 (1): 123–129. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90442-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90442-4)
19. Hamblin C., Kitching R. P., Donaldson A. I., Crowther J. R., Barnett I. T. R. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: III. Evaluation of antibodies after infection and vaccination. *Epidemiology and Infection*. 1987; 99 (3): 733–744. <https://doi.org/10.1017/S0950268800066590>
20. Луговская Н. Н., Калинина Е. Н., Малкова К. С., Воробьева О. В., Горячева Г. М., Майорова Т. К. Валидация методики определения уровня противоящурных антител в реакции жидкофазного блокирующего «сэндвич»-варианта иммуноферментного анализа. *Ветеринария сегодня*. 2015; (3): 22–29. <https://elibrary.ru/umsjvj>
21. Dho G., Grazioli S., Bugnetti M., Pezzoni G., Maree F. F., Esterhuysen J., et al. Ready-to-use kits for detection of antibody to FMDV serotypes SAT1 and SAT2. *Open session of the Standing Technical and Research Committees of the EuFMD (Cavtat, Croatia; October 29–31, 2014)*. https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/Open_Session_2014PPTS/Parallel29oct/WPar8.pdf

REFERENCES

1. WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 13th ed. 2024. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm
2. Ferrari G., Paton D., Duffy S., Bartels C., Knight-Jones T. Foot and mouth disease vaccination and post-vaccination monitoring: Guidelines. Ed. by S. Metwally, S. Münstermann. Rome: FAO, OIE; 2016. 111 p. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/5975e>
3. Lugovskaya N. N., Silant'yeva E. A., Mikhailishin D. V., Moroz N. V., Malygin M. P., Kharitonova A. A., et al. Diagnostic test-system for detection of antibodies to structural proteins of FMD virus genotype SAT2/VII in the liquid-phase blocking ELISA. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2023; (4): 43–52. <https://doi.org/10.24412/2074-5036-2023-4-43-52> (in Russ.)
4. ProMED, International society for infectious diseases. <https://promedmail.org/promed-post/?id=20230204.8708168>
5. Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Chvala I. A., Borisov A. V., Kharitonova A. A., Gochmuradov Y. M., et al. Culture inactivated emulsion vaccine against foot-and-mouth disease of SAT2/XIV genotype from SAT-2/XIV/2023 strain. Patent No. 2824660 Russian Federation, Int. Cl. A61K 39/135 (2006.01). Federal Centre for Animal Health. No. 2024108919. Date of filing: 03.04.2024. Date of publication: 12.08.2024. Bull. No. 23. (in Russ.)
6. Nikiforov V. V., Doronin M. I., Borisov A. V., Chvala I. A., Mikhailishin D. V., Fomina S. N., et al. SAT-2/XIV/2023 strain of foot and mouth disease virus *Aphtae epizooticae* of SAT2/XIV genotype for production of biopreparations for diagnosis and specific prevention of foot-and-mouth disease. Patent No. 2817257 Russian Federation, Int. Cl. C12N 7/00 (2006.01). Federal Centre for Animal Health. No. 2023123055. Date of filing: 04.09.2023. Date of publication: 12.04.2024. Bull. No. 11. (in Russ.)
7. Knowles N. J., Wadsworth J., Hicks H. M., Polo N., Mioulet V., Gizaw D., King D. P. Genome sequences of SAT 2 foot-and-mouth disease viruses belonging to toptotype XIV. Submitted (28-FEB-2023) Vesicular Disease Reference Laboratory Group, The Pirbright Institute, United Kingdom. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WKE35516.1>
8. Knowles N. J., Wadsworth J., Hicks H. M., Polo N., Mioulet V., Gizaw D., King D. P. Genome sequences of SAT 2 foot-and-mouth disease viruses belonging to toptotype XIV. Submitted (28-FEB-2023) Vesicular Disease Reference Laboratory Group, The Pirbright Institute, United Kingdom. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WKE35517.1>
9. Abualghusein I. H. M., Ababneh M. M. K., Al-Zghoul M. B., Alghizzawi D. A. A., Aboomer H. A. A. Submitted (07-JAN-2024) Basic Veterinary Science, Jordan University of Science and Technology, Jordan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WUR05443.1>
10. Sahle M., Venter E. H., Dwarka R. M., Vosloo W. Genetic heterogeneity of SAT-2 type foot-and-mouth disease viruses in East Africa. Submitted (17-JUL-2003) Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, South Africa. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAR09103>

11. Ahmed H. A., Salem S. A. H., Habashi A. R., Arafa A. A., Aggour M. G. A., Salem G. H., et al. Emergence of foot-and-mouth disease virus SAT 2 in Egypt during 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2012; 59 (6): 476–481. <https://doi.org/10.1111/tbed.12015>
12. Hassan A. M., El-Mayet F. S., El-Habbaa A. S., Shahein M. A., El Zowalaty M. E., Hagag N. M., Sharawi S. S. A. Molecular characterization of newly emerging foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2 of Lib-12 lineage isolated from Egypt. *Virus Research*. 2022; 311: 198651. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198651>
13. Hosen H. I., Roubay S. R., Hendy K. Submitted (23-MAY-2019) Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Egypt. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/QEI49588.1>
14. Abdulrahman D. A., Shaheen M. A., El-Deeb A. H., Shafik N. G., Hussein H. A. Characterization of FMDVs from vaccinated cattle and buffaloes in Egypt 2015–2017. Submitted (20-NOV-2017) Virology, Animal Health Research Institute (AHRI), Egypt. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AXR97922.1>
15. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227: 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
16. Lugovskaya N. N., Scherbakov A. V., Yakovleva A. S., Tsyvanyuk M. A., Mudrak N. S., Drygin V. V., Borisov A. V. Detection of antibodies to avian infectious virus by a recombinant nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Virological Methods*. 2006; 135 (2): 292–296. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.03.019>
17. Hamblin C., Barnett I. T. R., Hedger R. S. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: I. Development and method of ELISA. *Journal of Immunological Methods*. 1986; 93 (1): 115–121. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90441-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90441-2)
18. Hamblin C., Barnett I. T. R., Crowther J. R. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: II. Application. *Journal of Immunological Methods*. 1986; 93 (1): 123–129. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90442-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90442-4)
19. Hamblin C., Kitching R. P., Donaldson A. I., Crowther J. R., Barnett I. T. R. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: III. Evaluation of antibodies after infection and vaccination. *Epidemiology and Infection*. 1987; 99 (3): 733–744. <https://doi.org/10.1017/S0950268800066590>
20. Lugovskaya N. N., Kalinina Ye. N., Malkova K. S., Vorobyova O. V., Goryacheva G. M., Mayorova T. K. Validation of the technique aimed at the determination of FMD antibodies in liquid phase blocking sandwich ELISA. *Veterinary Science Today*. 2015; (3): 22–29. <https://elibrary.ru/umsjvj> (in Russ.)
21. Dho G., Grazioli S., Bugnetti M., Pezzoni G., Maree F. F., Esterhuysen J., et al. Ready-to-use kits for detection of antibody to FMDV serotypes SAT1 and SAT2. *Open session of the Standing Technical and Research Committees of the EuFMD (Cavtat, Croatia; October 29–31, 2014)*. https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/Open_Session_2014PPTS/Parallel29oct/WPar8.pdf

Поступила в редакцию / Received 05.03.2025

Поступила после рецензирования / Revised 10.04.2025

Принята к публикации / Accepted 24.07.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Луговская Наталия Николаевна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0001-0029-6345>, lugovskaya@arriah.ru

Елькина Юлия Сергеевна, канд. вет. наук, младший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, elkina_ys@arriah.ru

Шевченко Максим Александрович, канд. вет. наук, младший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0009-0006-5874-8363>, shevchenko_ma@arriah.ru

Гочмурадов Ыхлас Мурадович, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, gochmuradov@arriah.ru

Клюкина Надежда Дмитриевна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0865-3749>, klukina@arriah.ru

Михалишин Дмитрий Валерьевич, д-р вет. наук, главный эксперт по вакцинопрофилактике ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, mihalishindv@arriah.ru

Борисов Алексей Валерьевич, канд. вет. наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9880-9657>, borisov_av@arriah.ru

Natalia N. Lugovskaya, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0001-0029-6345>, lugovskaya@arriah.ru

Yulia S. El'kina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, elkina_ys@arriah.ru

Maxim A. Shevchenko, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0009-0006-5874-8363>, shevchenko_ma@arriah.ru

Ykhlal M. Gochmuradov, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, gochmuradov@arriah.ru

Nadezhda D. Klyukina, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0865-3749>, klukina@arriah.ru

Dmitry V. Mikhlishin, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Chief expert in FMD vaccine prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, mihalishindv@arriah.ru

Alexey V. Borisov, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9880-9657>, borisov_av@arriah.ru

Вклад авторов: Луговская Н. Н. – разработка и валидация тест-систем, исследования образцов сыворотки крови в ИФА, статистический анализ результатов, изучение научных публикаций по теме, разработка концепции исследования и подготовка статьи; Елькина Ю. С. – организация и проведение опыта на КРС, отбор крови для исследований в ИФА и РН; Шевченко М. А. – организация и проведение опыта на КРС, отбор крови для исследований в ИФА и РН; Гочмурадов Ы. М. – организация и проведение опыта на КРС, отбор крови для исследований в ИФА и РН; Клюкина Н. Д. – организация и проведение опыта на лабораторных мышах, отбор крови для исследований в ИФА и РН; Михалишин Д. В. – общее руководство, консультирование по вопросам вакцинопрофилактики, обеспечение материальной базы; Борисов А. В. – общее руководство, обеспечение материальной базы.

Contribution of the authors: Lugovskaya N. N. – development and validation of test systems, serum sample ELISA testing, statistical analysis of results, scientific literature review, research conceptualization, and manuscript preparation; El'kina Yu. S. – experiment design and implementation in cattle, collection of blood samples for ELISA and virus neutralization test; Shevchenko M. A. – experiment design and implementation in cattle, collection of blood samples for ELISA and virus neutralization test; Gochmuradov Y. M. – experiment design and implementation in cattle, collection of blood samples for ELISA and virus neutralization test; Klyukina N. D. – experiment design and implementation in mice, collection of blood samples for ELISA and virus neutralization test; Mikhlishin D. V. – overall leadership, consulting in vaccine prevention, material resource provision; Borisov A. V. – overall leadership, material resource provision.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-294-301>
УДК 619:636.2:579.83:615.331.015.8



Видовое разнообразие микроорганизмов и распространение антибиотикорезистентных энтеробактерий на молочных фермах

В. Д. Зубарева¹, Н. А. Безбородова¹, П. Г. Аминова², А. С. Кривоногова¹, О. В. Соколова¹, И. А. Шкуратова¹, М. Н. Исакова¹

¹ ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия

² ООО «Кволити Мед», ул. Машинная, 1, г. Екатеринбург, 620142, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Бактериальные сообщества существенно влияют на общую производительность сельскохозяйственных предприятий, от них зависит здоровье животных, производство молока, качество и безопасность пищевых продуктов. Зоонозные бактерии не только оказывают негативное воздействие на благополучие животных, но и представляют риск для общественного здравоохранения, поэтому мониторинг видового разнообразия микроорганизмов на молочных фермах для определения преобладающих видов возбудителей и профилей антибиотикорезистентности имеет важное значение.

Цель исследования. Изучение видового разнообразия бактериальных сообществ на молочной ферме и мониторинг распространения антибиотикорезистентности у изолятов *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis* для своевременной разработки мер по сдерживанию распространения устойчивых к антибактериальным препаратам микроорганизмов.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели проводили идентификацию микроорганизмов методом MALDI-ToF масс-спектрометрии и определяли антибиотикочувствительность выделенных культур с помощью диско-диффузионного метода.

Результаты. Установлено видовое разнообразие микроорганизмов, выделенных из проб экссудата с поверхности ран конечностей крупного рогатого скота, фекалий и образцов корма. Преобладающими микроорганизмами оказались оппортунистические и патогенные *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis*, для них определены профили антибиотикорезистентности. Один из изолятов *Escherichia coli* был мультирезистентным, только комбинация амоксициллина и клавулановой кислоты проявила эффективность в подавлении роста данной культуры. Большая доля изолятов *Proteus mirabilis* обладала устойчивостью к препаратам из группы фторхинолонов и чувствительностью ко всем остальным исследованным антибактериальным средствам.

Заключение. Отмечены факторы, влияющие на видовое разнообразие микроорганизмов в раневом экссудате, фекалиях и кормах. Определение профилей антибиотикорезистентности энтеробактерий позволит провести ротацию антибактериальных препаратов в исследованных животноводческих организациях.

Ключевые слова: микробные сообщества, антибиотикорезистентность, видовое разнообразие бактерий, крупный рогатый скот, патогены окружающей среды

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме 0532-2021-0004 «Разработка методологических подходов к мониторингу, контролю и сдерживанию антибиотикорезистентности оппортунистических микроорганизмов в животноводстве».

Для цитирования: Зубарева В. Д., Безбородова Н. А., Аминова П. Г., Кривоногова А. С., Соколова О. В., Шкуратова И. А., Исакова М. Н. Видовое разнообразие микроорганизмов и распространение антибиотикорезистентных энтеробактерий на молочных фермах. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 294–301. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-294-301>

Конфликт интересов: Шкуратова И. А. является членом редколлегии, но никакого отношения к решению опубликовать эту статью не имеет. Рукопись прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для корреспонденции: Зубарева Владлена Дмитриевна, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия, zzub97@mail.ru

Microbial species diversity and antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* spread on dairy farms

Vladlena D. Zubareva¹, Natalia A. Bezborodova¹, Polina G. Amineva², Anna S. Krivonogova¹, Olga V. Sokolova¹, Irina A. Shkuratova¹, Maria N. Isakova¹

¹ Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia

² Quality Med LLC, 1 Mashinnaya str., Ekaterinburg 620142, Russia

ABSTRACT

Introduction. Bacterial communities significantly affect the overall productivity of agricultural establishments, as animal health, milk production, and food quality and safety depend on them. Zoonotic bacteria not only have a negative impact on animal health, but also pose a risk to public health, so monitoring of the microbial species diversity on dairy farms to determine the predominant pathogen species and antibiotic resistance profiles is essential.

Objective. Study of bacterial species diversity on a dairy farm and monitoring of antibiotic resistance spread in *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* isolates in order to enable timely development of measures containing the spread of antibiotic-resistant microorganisms.

© Зубарева В. Д., Безбородова Н. А., Аминова П. Г., Кривоногова А. С., Соколова О. В., Шкуратова И. А., Исакова М. Н., 2025

Materials and methods. To achieve this goal, microorganisms were identified by MALDI-ToF mass spectrometry and antibiotic susceptibility of the isolated cultures was determined using the disc diffusion test.

Results. The species diversity of microorganisms isolated from samples of cattle limb wound exudates, feces, and feed was established. Opportunistic and pathogenic *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* turned out to be the predominant microorganisms, and their antibiotic resistance profiles were determined. One of the *Escherichia coli* isolates was found to be multi-resistant; only a combination of amoxicillin and clavulanic acid proved effective in inhibiting the growth of this culture. A large proportion of *Proteus mirabilis* isolates were resistant to drugs included in the group of fluoroquinolones and sensitive to all other tested antibacterial agents.

Conclusion. The factors influencing the microbial species diversity in wound exudate, feces and feed were reported. Determination of *Enterobacteriaceae* antibiotic resistance profiles will allow for the rotation of antibacterial drugs on the studied livestock farms.

Keywords: microbial communities, antibiotic resistance, bacterial species diversity, cattle, environmental pathogens

Acknowledgements: The study was conducted under the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Project 0532-2021-0004) "Development of methodological approaches for monitoring, controlling, and containing antimicrobial resistance in opportunistic microorganisms in livestock production".

For citation: Zubareva V. D., Bezborodova N. A., Amineva P. G., Krivonogova A. S., Sokolova O. V., Shkuratova I. A., Isakova M. N. Microbial species diversity and antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* spread on dairy farms. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 294–301. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-294-301>

Conflict of interests: Shkuratova I. A. is a member of the editorial board of the "Veterinary Science Today" journal, but was not involved into the decision making process related to this article publication. The manuscript has passed the review procedure accepted in the journal. The authors did not declare any other conflicts of interests.

For correspondence: Vladlena D. Zubareva, Junior Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia, zzub97@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальные сообщества, циркулирующие на молочных фермах, оказывают значительное влияние на безопасность пищевых продуктов, качество молочной продукции и здоровье животных [1]. Концепция «Единое здоровье» критически важна для понимания распространения резистентности к антибактериальным средствам, она подразумевает взаимодействие между людьми, животными и окружающей средой, что особенно актуально из-за общей природы устойчивых к противомикробным препаратам бактерий человека и животных [2]. В мире полмиллиарда человек заняты в сфере животноводства и напрямую подвергаются воздействию зоонозных микроорганизмов [3]. Остаточные количества противомикробных препаратов, антибиотикорезистентные патогены часто обнаруживаются в отходах животного происхождения и загрязняют почвенную среду и сточные воды [4]. *Escherichia coli* является резервуаром для многих генетических детерминант резистентности к антибиотикам, которые могут передаваться животным и людям через многочисленные пути: при контакте с животными или продуктами животного происхождения, а также с объектами окружающей среды [4]. *Proteus mirabilis* – условно-патогенный микроорганизм семейства *Enterobacteriaceae*, вызывающий воспалительные заболевания кожи, дыхательных путей, мочевыводящих путей и желудочно-кишечного тракта. После *E. coli* он является наиболее распространенной условно-патогенной и зоонозной бактерией, которую обнаруживают у различных животных, таких как куры, утки, черепахи, крупный рогатый скот и другие домашние животные [5]. *P. mirabilis* встречается в различных средах: сточных водах, почве и желудочно-кишечном тракте животных и человека [6]. Несоблюдение рекомендаций по назначению противомикробных препаратов в животноводстве способствует распространению антибиотикорезистентности.

Актуальность данной работы определяется тем, что изучение состава бактериальных сообществ, циркули-

рующих в животноводческих помещениях, позволит определить приоритетные микроорганизмы, влияющие на здоровье животных. Новизна исследований заключается в получении ранее неизвестных данных о составе микробиоты корма, раневого экссудата и фекалий крупного рогатого скота и выявлении степени распространения антибиотикорезистентности энтеробактерий в сельскохозяйственных организациях Свердловской области.

Цель исследования – изучение видового разнообразия бактериальных сообществ, а также проведение мониторинга распространения антибиотикорезистентных энтеробактерий (*E. coli* и *P. mirabilis*) на молочных фермах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в 2023–2024 гг. в отделе геномных исследований и селекции животных Уральского научно-исследовательского ветеринарного института – структурного подразделения ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» и лаборатории ООО «Кволити Мед» (г. Екатеринбург). Работа выполнена в 4 сельскохозяйственных организациях Свердловской области, занимающихся разведением крупного рогатого скота голштинской породы. Всего была отобрана 61 проба материала: экссудат с поверхностей ран конечностей (25), фекалии (22) и пробы корма (14).

Сбор проб фекалий от коров проводился зондом-тампоном в пробирки с модифицированной средой Кэри – Блэра, разработанной для транспортировки и сохранения жизнеспособности возбудителей кишечных инфекций (FecalSwab™, Соран, Италия). Пробы остального биоматериала помещали в пробирки с транспортной средой Amies (eSwab®, Соран, Италия).

В лаборатории ООО «Кволити Мед» методом ищущего штриха 10 мкл суспензии биоматериала с помощью стерильной калиброванной петли высевали

на питательные среды: колумбийский агар (Bio-Rad Laboratories, Inc., Франция) с 5% дефибринированной крови барана (E&O Laboratories Ltd., Шотландия); агар Плоскирева (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия); ГРМ-агар (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия); среда питательная хромогенная UriSelect 4 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Франция); агар Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (SIFIN diagnostics GmbH, Германия). Засеянные чашки Петри помещали в термостат при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и инкубировали 24 ч.

Выросшие колонии идентифицировали методом MALDI-ToF масс-спектрометрии с помощью прибора Vitek® MS (bioMérieux, Франция). Для этого бактериальную массу наносили на спот слайда, покрывали 1 мкл матрицы (α -циано-3-гидроксикоричная кислота), высушивали при комнатной температуре и считывали прибором масс-спектры рибосомальных белков, сравнивая их с базой данных с помощью программного обеспечения MYLA® (bioMérieux, Франция). Определяли род и вид изолятов в биоматериале с полуколичественной и количественной характеристикой (КОЕ/грамм и КОЕ/образец).

Чувствительность к антибиотикам устанавливали по стандартной методике European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) с использованием агара Мюллера – Хинтона (Bio-Rad Laboratories, Inc., Франция) и дисков (Bio-Rad Laboratories, Inc., Франция), пропитанных препаратами с определенной нагрузкой (табл.). Для считывания антибиотикограмм использовали автоматический анализатор ADAGIO (Bio-Rad Laboratories, Inc., Франция). При интерпретации категорий чувствительности применяли критерии EUCAST (E. A. Elshafie, S. M. Nader, S. M. Dorgham,

D. A. Hamza; версия 12.0, действующая с 01.01.2022). Несмотря на то что, согласно приказу Минсельхоза России от 18 ноября 2021 г. № 771, цефтазидим, цефепим, цефотаксим, цефтриаксон, цефоперазон запрещены к применению в ветеринарных целях, многие из данных антибактериальных веществ ранее входили в состав лекарственных средств, используемых при терапии воспалительных заболеваний крупного рогатого скота, в связи с чем указанные препараты также были включены при оценке профиля антибиотикорезистентности изолятов *E. coli* и *P. mirabilis*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего методом MALDI-ToF идентифицировано 189 изолятов микроорганизмов.

В исследованных пробах раневого экссудата ($n = 86$) среди оппортунистических и патогенных микроорганизмов наибольшую долю занимали (рис. 1): *P. mirabilis* (9,30%), *E. coli* и *Trueperella pyogenes* (по 8,14%), *Bacteroides pyogenes* (6,98%), *Aerococcus viridans* и *Prevotella melaninogenica* (по 5,81%), *Aeromonas hydrophila* и *Candida catenulata* (по 4,65%), *Bacillus altitudinis/pumilus*, *Mannheimia haemolytica*, *Streptococcus agalactiae* (3,49%).

По данным S. C. Liegenfeld et al. [7], в составе микробиоты инфицированных ран наиболее часто обнаруживаются следующие микроорганизмы: грамотрицательные – *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. и *Bacteroides* spp.; грамположительные – *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheriae* и коагулазоотрицательные стафилококки. Таким образом, представленные авторами сведения о видовом разнообразии раневой микрофлоры отличаются от результатов нашего исследования.

Распространенность *P. mirabilis* в пищевых продуктах животного происхождения и побочных продуктах животноводства недостаточно изучена [8]. Вероятнее всего, обнаружение *P. mirabilis*, как и *E. coli*, в раневом экссудате связано с фекальным загрязнением поверхности ран. Бактерии вида *T. pyogenes* входят в состав микробиоты кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовых путей животных и являются условно-патогенными микроорганизмами. Они вызывают различные гнойные инфекции, такие как метрит, мастит, пневмония и абсцессы, которые наносят значительный экономический ущерб животноводству [9]. *B. pyogenes* – представитель микробиоты полости рта кошек и собак, укусы этих животных являются основными факторами риска заражения для человека. Данная бактерия может вызывать ряд воспалительных заболеваний, включая инфекции кожи и мягких тканей, остеомиелит, метрит и абсцессы печени [10, 11]. Обнаруженная в ходе исследований анаэробная бактерия *P. melaninogenica* участвует в развитии и прогрессировании копытной гнили у крупного рогатого скота [12]. Представители филума *Aeromonas* вызывают заболевания, связанные с развитием диареи у поросят и свиней, жеребят и лошадей; аборт и репродуктивные заболевания кобыл, септические артриты жеребят, септицемию собак, маститы коров, полиартриты телят, при этом *A. hydrophila* был определен как единственный источник развития инфекции в ране у коровы [13]. *S. agalactiae* –

Таблица

Антибактериальные препараты для оценки антибиотикочувствительности микроорганизмов

Table

Antibacterial drugs used for assessing the antibiotic susceptibility of microorganisms

Наименование препарата	Группа антибиотиков	Концентрация активного вещества, мкг
Цефиксим	цефалоспорины III поколения	5
Цефподоксим Цефтазидим	цефалоспорины III поколения	10
Цефепим Цефотаксим Цефуросим Цефтриаксон	цефалоспорины II, III, IV поколений	30
Цефоперазон	цефалоспорины III поколения	75
Марбофлоксацин Энрофлоксацин Левифлоксацин Ципрофлоксацин Норфлоксацин	фторхинолоны	5
Гентамицин	аминогликозиды	10
Амоксициллин	полусинтетические пенициллины	30
Амоксициллин / клавулановая кислота	полусинтетические пенициллины / ингибиторы бета-лактамаз	20/10

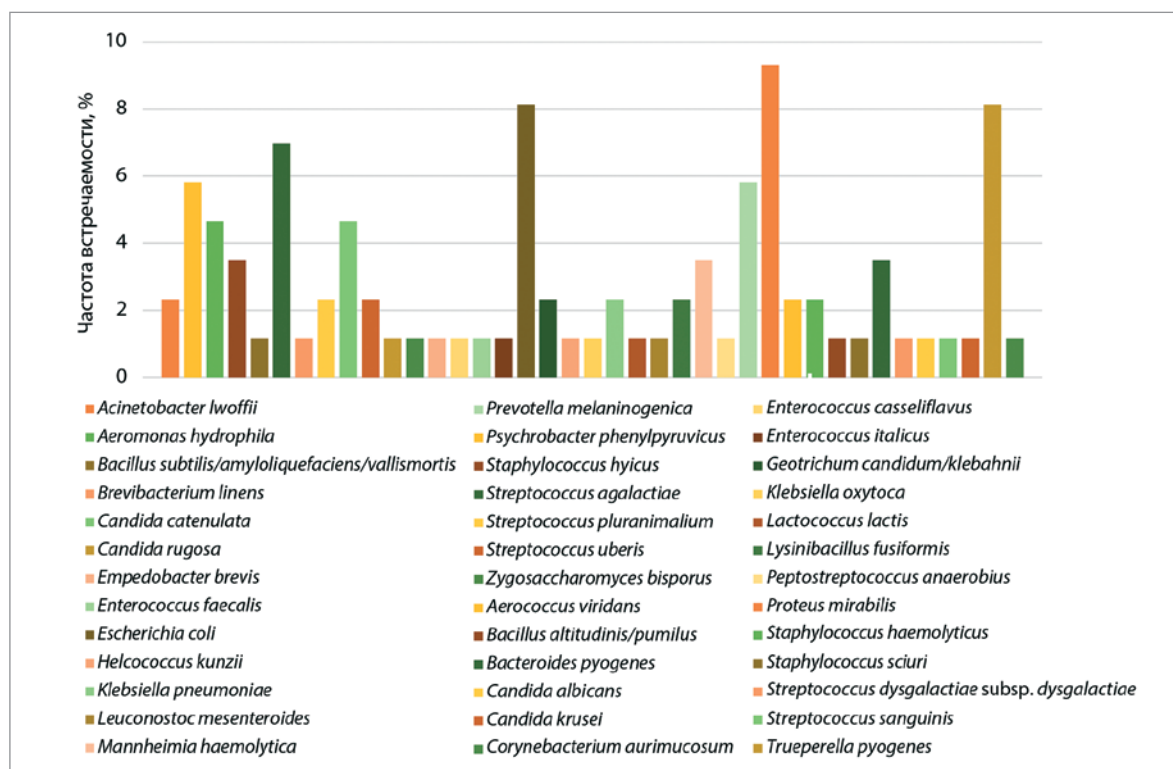


Рис. 1. Видовое разнообразие бактериальных сообществ, выделенных из раневого экссудата крупного рогатого скота (n = 86)

Fig. 1. Species diversity of bacterial communities isolated from wound exudates of cattle (n = 86)

микроорганизм, способный индуцировать хронический мастит у коров. Помимо этого, стрептококк данного вида может колонизировать желудочно-кишечный тракт молочных коров, а при контаминации фекалиями раневых поверхностей конечностей – быть причиной обнаружения данного микроорганизма в раневом экссудате [14].

Значительно меньшее видовое разнообразие оппортунистических и патогенных микроорганизмов идентифицировано в пробах фекалий крупного ро-

гатого скота (n = 59): *E. coli* – 28,81%, *Aspergillus niger* complex – 15,25%, *Bacillus licheniformis* – 8,47%, *P. mirabilis* и *Enterococcus hirae* – по 6,78%, отмечено присутствие и других представителей грибковой микрофлоры (рис. 2).

Сокращение разнообразия фекальной микрофлоры может быть связано с увеличением концентрированных кормов в рационе [15]. Высококонцентрированная диета приводит к снижению соотношения ацетата к пропионату и pH в рубце, что негативно влияет на

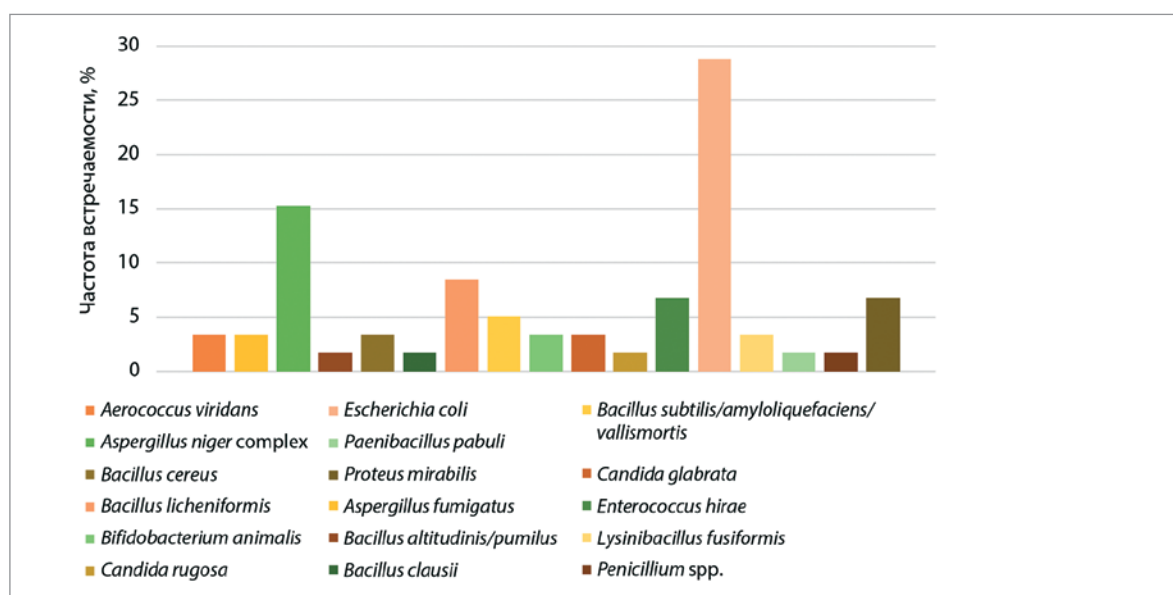


Рис. 2. Видовое разнообразие фекальной микрофлоры крупного рогатого скота (n = 59)

Fig. 2. Fecal microbiota species diversity in cattle (n = 59)

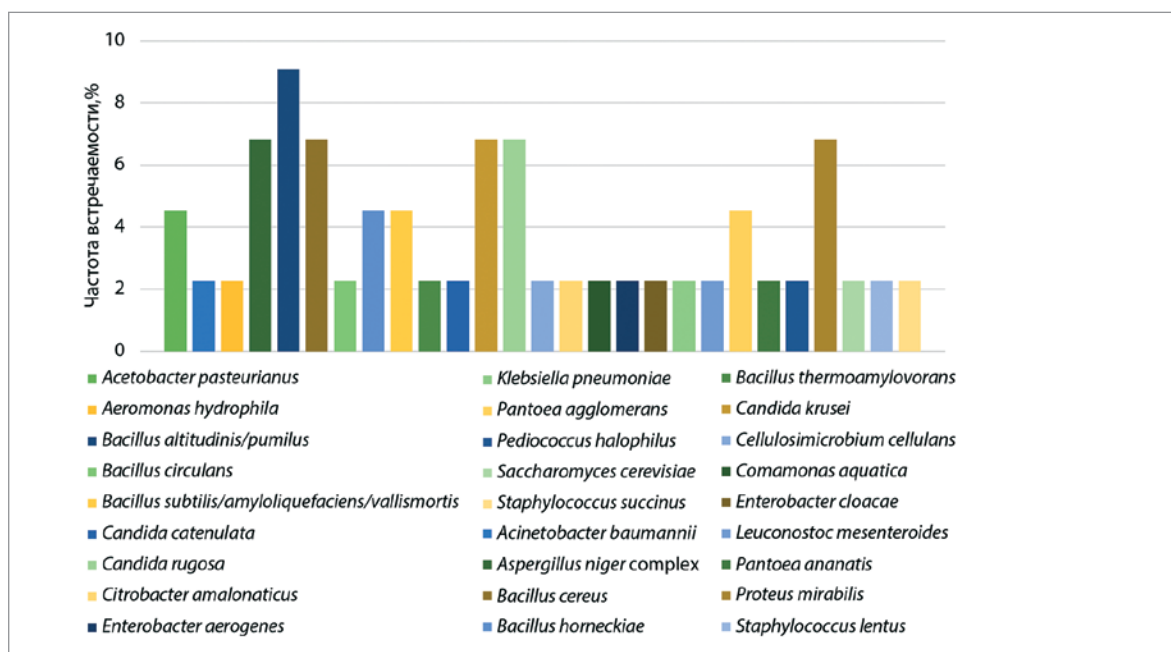


Рис. 3. Видовое разнообразие микроорганизмов, выделенных из проб корма (n = 44)

Fig. 3. Species diversity of microorganisms isolated from feed samples (n = 44)

общее состояние здоровья и продуктивность крупного рогатого скота [16]. На этом фоне возникает дисбиоз, вследствие чего могут увеличиваться популяции определенных бактерий, таких как условно-патогенные *E. coli* [16], превалирование которых в фекальной микробиоте коров выявлено в наших исследованиях. Фекальное загрязнение *E. coli* окружающей среды увеличивает риск развития у коров колиформного мастита [17] и воспалительных заболеваний репродуктивного тракта [18].

В пробах корма: силоса, сенажа, комбикорма (n = 44) – преобладающими оппортунистическими и патогенными видами оказались: *Bacillus altitudinis/pumilus* – 9,09%, *Aspergillus niger complex*, *Bacillus cereus*, *Candida krusei*, *Candida rugosa* и *P. mirabilis* – по 6,82% (рис. 3).

Виды микроорганизмов, обычно обнаруживаемые в силосе, включают: *Bacillus pumilus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *S. sphaericus* и *B. cereus*. Появление спор *B. cereus* в силосе неизбежно при нарушении технологического процесса заготовки и хранения кормов. Споры *B. cereus* проходят через желудочно-кишечный тракт крупного рогатого скота без изменений и выделяются с фекалиями, во время доения из-за загрязнения поверхностей сосков могут переноситься в сырое молоко [19]. Наличие *Candida* spp., в частности *C. krusei*, в пробах корма – неблагоприятный показатель, поскольку данные микроскопические грибы могут вызывать микотический мастит у коров [20]. В нашем исследовании в пробах силоса обнаруживали *A. niger*, что может оказывать как положительное, так и отрицательное влияние на организм коров. Данный вид аспергилл продуцирует β-глюкозидазу, фермент, расщепляющий цианогенные гликозиды, токсичные для крупного рогатого скота, что снижает риск отравления цианидом и улучшает качество силоса [21]. В то же время аспергиллез крупного рогатого скота, особенно вызванный *A. niger*, может приводить к микотическим абортam и маститам [22]. Выявление в пробах корма патогенных микроорганизмов свидетельствует о необходимости разработки и реали-

зации мер по улучшению технологических процессов заготовки, хранения и контроля качества кормов в исследованных животноводческих организациях.

Для определения антибиотикочувствительности были выбраны изоляты *E. coli* и *P. mirabilis*, так как эти микроорганизмы оказались преобладающими практически во всех видах исследованного биологического материала, кроме того, они имеют важное значение в индуцировании заболеваний как животных, так и человека.

У культур *E. coli* (n = 17) диско-диффузионным методом обнаружена резистентность к препаратам из групп фторхинолонов – 35,29% и цефалоспоринов – 11,76%. При этом к цефуроксиму 80,0% выделенных из фекалий изолятов эшерихий были чувствительны только при увеличении экспозиции. Наибольшая резистентность выявлена к амоксициллину – 41,18%, а к амоксициллину / клавулановой кислоте отмечается снижение устойчивости на 29,42%. Резистентность к гентамицину установлена у 17,65% изолятов (рис. 4).

Фенотип множественной лекарственной устойчивости – устойчивость хотя бы к одному агенту из трех или более химических классов антибиотиков – выявлена у одного изолята *E. coli*, эффективным в подавлении роста данного изолята оказалась комбинация амоксициллина и клавулановой кислоты. Среди патогенов со множественной лекарственной устойчивостью, широко распространенных на молочных фермах, особую обеспокоенность вызывает *E. coli*, поскольку некоторые штаммы могут вызывать пищевые инфекции у людей [4]. В процессе экспериментов R. Manishimwe et al. [23] у изолятов *E. coli* наблюдали наличие резистентности к тетрациклину (8,2%), цефтриаксону (56,8%), ципрофлоксацину (77,3%) и комбинации налидиксовой кислоты и ципрофлоксацина (54,5%), то есть частота встречаемости устойчивых изолятов *E. coli* значительно выше, чем в проведенном нами исследовании.

Все изоляты *E. coli*, выделенные из образцов раневого экссудата, за исключением одного, резистентного

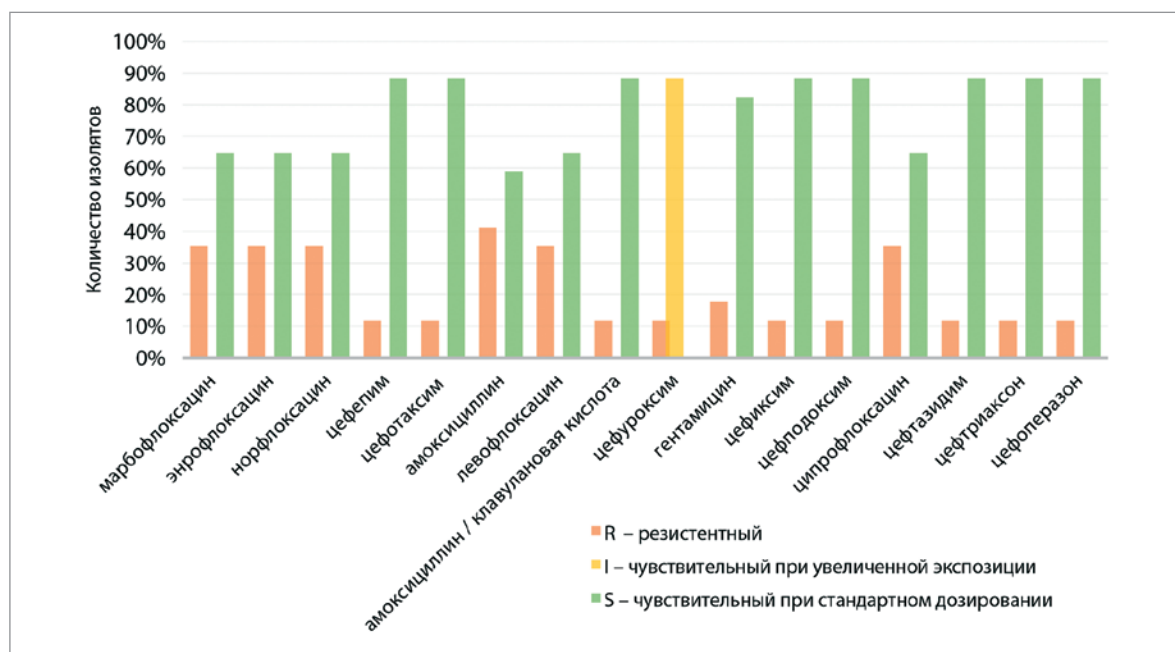


Рис. 4. Резистентность изолятов *E. coli* к антибактериальным препаратам ($n = 17$)

Fig. 4. Resistance of *E. coli* isolates to antibacterial drugs ($n = 17$)

к амоксициллину, оказались чувствительными ко всем исследованным антибиотикам. Alharbi N. S. et al. выявлено, что более 50% изолятов *E. coli*, полученных из раневого отделяемого, были устойчивы к цефазолину, ампициллину, цефутоксиму, ципрофлоксацину, мезлоциллину, моксифлоксацину, пиперациллину и тетрациклину; 70% изолятов продуцировали бета-лактамазы расширенного спектра действия [24].

Резистентность к фторхинолонам наблюдали у 60,0% изолятов *P. mirabilis* ($n = 10$), выделенных из проб раневого экссудата (рис. 5). Все изоляты были восприимчивы к препаратам из группы цефалоспоринов, за исключением цефутоксима, к которому чувствитель-

ность проявили 80% изолятов только при увеличенной экспозиции. Устойчивость к амоксициллину и его комбинации с клавулановой кислотой наблюдали у 40% изолятов, полученных из фекалий и раневого экссудата; 40% изолятов, выделенных из раневого отделяемого, были резистентны к гентамицину. В целом стоит отметить, что препараты из группы цефалоспоринов эффективны в отношении *P. mirabilis*.

В проведенных исследованиях выявлено, что высокая распространенность у кур штаммов *P. mirabilis*, устойчивых к группе пенициллинов, цефалоспоринов и сульфаниламидов, является прямым следствием использования антимикробных препаратов

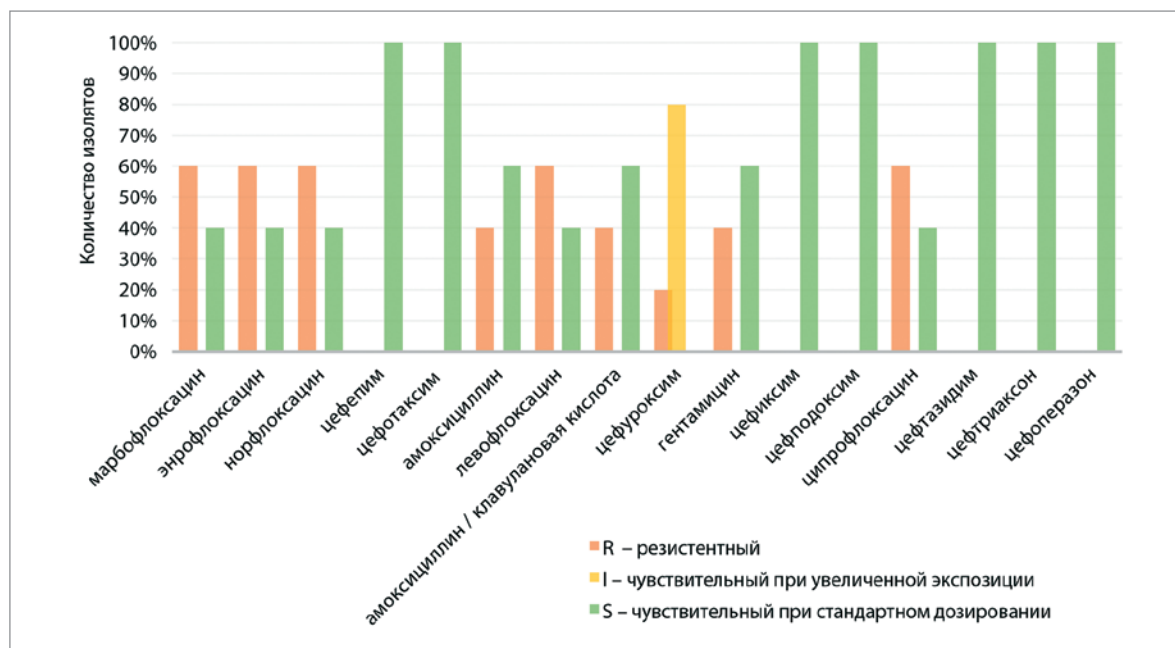


Рис. 5. Резистентность изолятов *P. mirabilis* к антибактериальным препаратам ($n = 10$)

Fig. 5. Resistance of *P. mirabilis* isolates to antibacterial drugs ($n = 10$)

в птицеводстве [25, 26]. Распространение антибиотикорезистентных *P. mirabilis* у продуктивных животных и в окружающей среде сельскохозяйственных предприятий является актуальной проблемой общественного здравоохранения. Ранее уже была описана передача *P. mirabilis* с фенотипом множественной лекарственной устойчивости от животных к человеку при употреблении зараженных пищевых продуктов или при тесном контакте с животными [8, 25].

В ходе работы при помощи метода MALDI-ToF установлено видовое разнообразие бактерий, выделенных из проб экссудата с поверхности ран конечностей крупного рогатого скота, фекалий и проб корма. Полученные данные могут быть использованы на сельскохозяйственных предприятиях для назначения рациональной антибиотикотерапии как раневых инфекций, так и в случае возникновения других воспалительных заболеваний, связанных с данными возбудителями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы в пробах раневого экссудата выявлено большое видовое разнообразие бактериальных сообществ, что в основном может быть связано с фекальной контаминацией ран конечностей. Фекальная же микробиота характеризовалась меньшим видовым составом, что может быть обусловлено возникновением дисбиоза вследствие увеличения доли концентрированных кормов в рационе коров, при этом в пробах фекалий установлено доминирование условно-патогенных *E. coli* (28,81%). Преобладание в пробах корма патогенных видов *A. niger*, *B. cereus* и *C. krusei* свидетельствует о необходимости изменения технологических процессов заготовки, хранения и осуществления контроля за качеством кормов в исследовательских животноводческих организациях.

Установлены профили антибиотикорезистентности *E. coli* и *P. mirabilis*. У культур *E. coli*, изолированных из фекалий, устойчивость в основном обнаружена к препаратам из группы фторхинолонов (35,29%) и цефалоспоринов (11,76%). При этом практически все изоляты эшерихий, выделенные из раневого экссудата, оказались чувствительны ко всем исследованным антибактериальным препаратам. У одного изолята *E. coli* выявлен фенотип множественной лекарственной устойчивости, эффективным в подавлении его роста оказалась комбинация амоксициллина и клавулановой кислоты. Установлено, что практически все изоляты *P. mirabilis* были устойчивы к антибактериальным препаратам из группы фторхинолонов, эффективными в отношении *P. mirabilis* оказались препараты из группы цефалоспоринов. Для предотвращения дальнейшего роста антибиотикорезистентности необходимо проведение ротации антибактериальных препаратов, применяемых на молочных фермах, согласно выявленным профилям антибиотикорезистентности энтеробактерий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Perdomo A., Calle A. Assessment of microbial communities in a dairy farm from a food safety perspective. *International Journal of Food Microbiology*. 2024; 423:110827. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110827>
- Tyrrrell C., Burgess C. M., Brennan F. P., Münzenmaier D., Drissner D., Leigh R. J., Walsh F. Genomic analysis of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from manure and manured agricultural grasslands. *NPJ Antimicrobials and Resistance*. 2025; 3:8. <https://doi.org/10.1038/s44259-025-00081-8>
- Mahmud B., Vargas R. C., Sukhum K. V., Patel S., Liao J., Hall L. R., et al. Longitudinal dynamics of farmer and livestock nasal and faecal micro-

- biomes and resistomes. *Nature Microbiology*. 2024; 9: 1007–1020. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01639-4>
- Veloo Y., Rajendiran S., Zakaria Z., Ismail R., Rahman S. A., Mansor R., Thahir S. S. A. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* in the environment, cow dung, and milk of Selangor dairy farms. *Antibiotics*. 2025; 14 (2):137. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14020137>
- Liu L., Dong Z., Ai S., Chen S., Dong M., Li Q., et al. Virulence-related factors and antimicrobial resistance in *Proteus mirabilis* isolated from domestic and stray dogs. *Frontiers in Microbiology*. 2023; 14:1141418. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1141418>
- Al-Qurashi E., Elbanna K., Ahmad I., Abulreesh H. H. Antibiotic resistance in *Proteus mirabilis*: mechanism, status, and public health significance. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2022; 16 (3): 1550–1561. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.3.59>
- Liegenfeld S. C., Stenzel S., Rembe J.-D., Dittmer M., Ramos P., Stuermer E. K. Pathogenic and non-pathogenic microbes in the wound microbiome – how to flip the switch. *Microbiology Research*. 2025; 16 (2):39. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16020039>
- Chalmers G., Anderson R. E. V., Murray R., Topp E., Boerlin P. Characterization of *Proteus mirabilis* and associated plasmids isolated from anaerobic dairy cattle manure digesters. *PLoS ONE*. 2023; 18 (8):e0289703. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289703>
- Rzewuska M., Kwiecień E., Chrobak-Chmiel D., Kizerwetter-Świda M., Stefańska I., Gieryńska M. Pathogenicity and virulence of *Trueperella pyogenes*: a review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (11):2737. <https://doi.org/10.3390/ijms20112737>
- Lee H. K., Walls G., Anderson G., Sullivan C., Wong C. A. Prolonged *Bacteroides pyogenes* infection in a patient with multiple lung abscesses. *Respirology Case Reports*. 2024; 12 (3):e01314. <https://doi.org/10.1002/rcr2.1314>
- Cunha F., Jeon S. J., Jeong K. C., Galvão K. N. Draft genome sequences of *Bacteroides pyogenes* strains isolated from the uterus of Holstein dairy cows with metritis. *Microbiology Resource Announcements*. 2019; 8 (41):e01043-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.01043-19>
- Pyakurel S., Caddey B. J., Dias A. P., De Buck J., Morck D. W., Orsel K. Profiling bacterial communities in feedlot cattle affected with bovine foot rot and bovine digital dermatitis lesions using 16S rRNA gene sequencing and quantitative real-time PCR. *BMC Microbiology*. 2025; 25:158. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03869-w>
- Awoyomi O. J., Oyewusi J. A., Talabi A. O., Oyewusi I. K., Biobaku K. T., Mustapha O. A., Agbaje M. Isolation of *Aeromonas hydrophila* in a case of wound infection in cattle in Nigeria. *Nigerian Journal of Animal Production*. 2014; 41 (1): 213–219. <https://doi.org/10.51791/njap.v41i1.2726>
- Kabelitz T., Aubry E., van Vorst K., Amon T., Fulde M. The role of *Streptococcus* spp. in bovine mastitis. *Microorganisms*. 2021; 9 (7):1497. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071497>
- Corrêa P. S., Jimenez C. R., Mendes L. W., Rymer C., Ray P., Gerdes L., et al. Taxonomy and functional diversity in the fecal microbiome of beef cattle reared in Brazilian traditional and semi-intensive production systems. *Frontiers in Microbiology*. 2021; 12:768480. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.768480>
- Auffret M. D., Dewhurst R. J., Duthie C. A., Rooke J. A., Wallace R. J., Freeman T. C., et al. The rumen microbiome as a reservoir of antimicrobial resistance and pathogenicity genes is directly affected by diet in beef cattle. *Microbiome*. 2017; 5:159. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0378-z>
- Abegewi U. A., Esemu S. N., Ndirip R. N., Ndirip L. M. Prevalence and risk factors of coliform-associated mastitis and antibiotic resistance of coliforms from lactating dairy cows in North West Cameroon. *PLoS ONE*. 2022; 17 (7):e0268247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268247>
- Yamamura F., Sugiura T., Munby M., Shiokura Y., Murata R., Nakamura T., et al. Relationship between *Escherichia coli* virulence factors, notably *kpsMTII*, and symptoms of clinical metritis and endometritis in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2022; 84 (3): 420–428. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0586>
- Driehuis F., Wilkinson J. M., Jiang Y., Ogunade I., Adesogan A. T. Silage review: Animal and human health risks from silage. *Journal of Dairy Science*. 2018; 101 (5): 4093–4110. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13836>
- Elad D., Shpigiel N. Y., Winkler M., Klinger I., Fuchs V., Saran A., Faingold D. Feed contamination with *Candida krusei* as a probable source of mycotic mastitis in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1995; 207 (5): 620–622. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7649779>
- Zhai J., Wang B., Sun Y., Yang J., Zhou J., Wang T., et al. Effects of *Aspergillus niger* on cyanogenic glycosides removal and fermentation qualities of ratooning sorghum. *Frontiers in Microbiology*. 2023; 14:1128057. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1128057>
- Seyedmousavi S., Guillot J., Arné P., de Hoog G. S., Mouton J. W., Melchers W. J. G., Verweij P. E. *Aspergillus* and aspergilloses in wild and domestic animals: a global health concern with parallels to human disease.

Medical Mycology. 2015; 53 (8): 765–797. <https://doi.org/10.1093/mmy/tyv067>

23. Manishimwe R., Moncada P. M., Bugarel M., Scott H. M., Loneragan G. H. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from dairy cattle feces in Texas. *PLoS ONE*. 2021; 16 (5):e0242390. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242390>

24. Alharbi N. S., Khaled J. M., Kadaikunnan S., Alobaidi A. S., Sharafadin A. H., Alyahya S. A., et al. Prevalence of *Escherichia coli* strains resistance to antibiotics in wound infections and raw milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019; 26 (7): 1557–1562. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.11.016>

25. Sarwar A., Aslam B., Mahmood S., Muzammil S., Siddique A. B., Sarwar F., et al. Distribution of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* in poultry, live-stock, fish, and the related environment: One Health heed. *Veterinary World*. 2025; 18 (2): 446–454. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.446-454>

26. Кривоногова А. С., Донник И. М., Исаева А. Г., Логинов Е. А., Петропавловский М. В., Беспамятных Е. Н. Антибиотикорезистентность *Enterobacteriaceae* в микробиомах цыплят-бройлеров. *Техника и технология пищевых производств*. 2023; 53 (4): 710–717. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2472>

Krivanogova A. S., Donnik I. M., Isaeva A. G., Loginov E. A., Petropavlovskiy M. V., Bepamyatnykh E. N. Antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* in microbiomes associated with poultry farming. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023; 53 (4): 710–717. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2472> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 16.05.2025

Поступила после рецензирования / Revised 30.06.2025

Принята к публикации / Accepted 11.07.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Зубарева Владлена Дмитриевна, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0284-0276>, zzub97@mail.ru

Безбородова Наталья Александровна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник, заведующий отделом геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2793-5001>, n-bezborodova@mail.ru

Аmineva Полина Геннадьевна, врач-микробиолог, заведующий лабораторией ООО «Кволити Мед», г. Екатеринбург, Россия; pga@qualitymed.ru

Кривоногова Анна Сергеевна, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>, tel-89826512934@yandex.ru

Соколова Ольга Васильевна, д-р вет. наук, ведущий научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, руководитель Уральского научно-исследовательского ветеринарного института – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1169-4090>, nauka_sokolova@mail.ru

Шкуратова Ирина Алексеевна, д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник отдела экологии и незаразной патологии животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>, shkuratova@bk.ru

Исакова Мария Николаевна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, tmarya105@yandex.ru

Vladlena D. Zubareva, Junior Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0284-0276>, zzub97@mail.ru

Natalia A. Bezborodova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Head of Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2793-5001>, n-bezborodova@mail.ru

Polina G. Amineva, Microbiologist, Head of Laboratory, Quality Med LLC, Ekaterinburg, Russia; pga@qualitymed.ru

Anna S. Krivanogova, Dr. Sci. (Biology), Leading Resercher, Department of Veterinary and Laboratory Diagnosis and Testing Laboratory, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>, tel-89826512934@yandex.ru

Olga V. Sokolova, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Head of Ural Scientific Research Veterinary Institute, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1169-4090>, nauka_sokolova@mail.ru

Irina A. Shkuratova, Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, Department of Ecology and Animals' Noncontagious Pathology, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>, shkuratova@bk.ru

Maria N. Isakova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, tmarya105@yandex.ru

Вклад авторов: Зубарева В. Д. – отбор проб, работа с литературой, подготовка текста, анализ и обобщение; Безбородова Н. А. – отбор проб, дизайн исследования, редактирование текста; Аmineva П. Г. – проведение микробиологических исследований и MALDI-ToF масс-спектрометрии, определение антибиотикочувствительности диско-диффузионным методом; Кривоногова А. С. – составление плана исследования, редактирование текста; Соколова О. В. – отбор проб, администрирование, редактирование текста; Шкуратова И. А. – научное консультирование, редактирование текста; Исакова М. Н. – организация отбора и доставки материала для исследований.

Contribution of the authors: Zubareva V. D. – sample collection, literature review, text preparation, data analysis and synthesis; Bezborodova N. A. – sample collection, study design, text editing; Amineva P. G. – microbiological tests and MALDI-ToF mass spectrometry conducting, determination of antibiotic susceptibility by the disk diffusion method; Krivanogova A. S. – study concept development, paper editing; Sokolova O. V. – sample collection, administration, editing; Shkuratova I. A. – scientific support, text editing; Isakova M. N. – arrangement of the sample collection and transportation for testing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-302-309>
УДК 619:579.62:579.852.1



Идентификация и некоторые биологические свойства изолятов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из толстого отдела кишечника птицы

Н. И. Малик, Н. А. Чупахина, И. А. Русанов, Е. В. Малик, Л. А. Маленкова, Н. С. Самохвалова, М. В. Сурогин

ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»),
Звенигородское шоссе, 5, г. Москва, 123022, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Проведенная за последнее десятилетие перепись филогенетического разнообразия бактерий, колонизирующих кишечный тракт клинически здоровой птицы, показывает, что до 60% родов, присутствующих в микробиоме кишечника, содержат спорообразующие бактерии, и эти роды составляют 30% от общей кишечной микробиоты. Были зарегистрированы преимущества, связанные с использованием пробиотиков, содержащих спорообразующие бактерии рода *Bacillus*. Анализ широты распространения гемолитической и потенциальной биопленкообразующей активности, а также антибиотикорезистентности у кишечной популяции споробииоты птицы необходим для понимания истинной роли аэробных спорообразователей рода *Bacillus* в экологии кишечного микробиома птицы.

Цель работы. Идентификация и исследование биологических характеристик (гемолитическая активность, потенциальная способность к биопленкообразованию и антибиотикорезистентность) изолятов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из толстого отдела кишечника птицы.

Материалы и методы. Выделение спорообразующих бактерий из содержимого слепых отростков толстого кишечника птицы проводили путем прогрева образцов. Фенотипическую идентификацию изолятов осуществляли с использованием биохимических тест-панелей API 50CHB (bioMérieux, Франция). Гемолитические свойства определяли на колумбийском агаре (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия) с добавлением 5% стерильной дефибрированной крови барана; каталазную активность — в тесте с 10%-й перекисью водорода по ОФС.1.7.2.0012.15; чувствительность к антибиотикам — диффузионным методом со стандартными дисками, импрегнированными антибиотиками в концентрациях от 5 до 30 µg/disk. Скрининг спорообразующих бактерий — продуцентов биопленки проводили качественным методом на сердечно-мозговом агаре (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия) с добавлением индикатора конго красного и 5% сахарозы.

Результаты. Установлено, что кишечная популяция аэробной споробииоты слепых отростков толстого кишечника птицы представлена видами *B. licheniformis*, *B. subtilis/amyloliquefaciens*, *B. mycoides*, *B. megaterium* и *B. cereus*. Все изученные изоляты были каталазоположительными, не обладали α-гемолитической активностью. У части изолятов отмечена β-гемолитическая активность. Подавляющее большинство изолятов относились к биопленкообразующим фенотипам и проявляли чувствительность к тестируемым антибиотикам.

Заключение. Вегетативные формы спорообразующих бактерий рода *Bacillus* потенциально могут сохраняться в сложной экосистеме кишечника или временно ассоциироваться с ней. Гемолитически активные кишечные изоляты спорообразующих бактерий не могут считаться безопасными до выяснения действия этого фактора вирулентности на организм животных. Результаты исследований могут быть использованы при отборе кандидатных штаммов бактерий рода *Bacillus*, выбранных в качестве пробиотиков.

Ключевые слова: споробииота, гемолиз, биопленка, антибиотикорезистентность

Благодарности: Исследование финансировалось Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору, научно-исследовательский проект АААА-А20-120012790050-7 по теме «Диагностика состояния нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственной птицы под воздействием антимикробных и пробиотических препаратов для разработки и осуществления мер по ее сохранению или восстановлению».

Для цитирования: Малик Н. И., Чупахина Н. А., Русанов И. А., Малик Е. В., Маленкова Л. А., Самохвалова Н. С., Сурогин М. В. Идентификация и некоторые биологические свойства изолятов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из толстого отдела кишечника птицы. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 302–309. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-302-309>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Чупахина Наталия Александровна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии ФГБУ «ВГНКИ», Звенигородское шоссе, 5, г. Москва, 123022, Россия, n.chupahina@vgnki.ru

Identification and some biological characteristics of *Bacillus* strains isolated from poultry large intestine

Nina I. Malik, Nataliya A. Chupahina, Ivan A. Rusanov, Evgeniy V. Malik, Liya A. Malenkova, Nadezhda S. Samokhvalova, Mikhail V. Surogin

The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, 5 Zvenigorodskoe shosse, Moscow 123022, Russia

ABSTRACT

Introduction. Censuses of phylogenetic diversity of bacteria colonizing the intestinal tract of clinically healthy poultry conducted over the past decade indicate that up to 60% of genera present in the gut microbiome contain spore-forming bacteria, accounting for 30% of total gut microbiota. Benefits associated with using

probiotics containing *Bacillus* spore-forming bacteria have been documented. Analysis of the prevalence of hemolytic and potential biofilm-forming activity, as well as antibiotic resistance in poultry gut spore-forming microbiota is essential for understanding the true role of aerobic spore-formers of the *Bacillus* genus in avian gut microbiome ecology.

Objective. Identification and investigation of biological characteristics (hemolytic activity, potential biofilm-forming capacity and antibiotic resistance) of *Bacillus* bacterial isolates obtained from the large intestine of poultry.

Materials and methods. Spore-forming bacteria were isolated from cecal content through sample heat treatment. Phenotypic identification was performed using API 50CHB biochemical test panels (bioMérieux, France). Hemolytic properties were assessed using Columbia agar (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., India) supplemented with 5% sterile defibrinated sheep blood; catalase activity was assessed using 10% hydrogen peroxide according to General Pharmacopoeia Monograph GPM.1.7.2.0012.15; antibiotic sensitivity was assessed with disk diffusion test involving standard antibiotic-impregnated disks (5–30 µg/disk). Biofilm-producing, spore-forming bacteria were tested qualitatively using brain-heart infusion agar (BHI; HiMedia Laboratories Pvt Ltd., India) supplemented with Congo red and 5% sucrose.

Results. It was established that the cecal aerobic spore-forming microbiota in poultry comprised *B. licheniformis*, *B. subtilis/amyloliquefaciens*, *B. mycoides*, *B. megaterium* and *B. cereus*. All tested isolates were catalase-positive and lacked α -hemolytic activity. Some isolates demonstrated β -hemolytic activity. The overwhelming majority exhibited biofilm-forming phenotypes and showed susceptibility to tested antibiotics.

Conclusion. Vegetative forms of *Bacillus* spore-forming bacteria may potentially persist in or temporarily associate with the complex gut ecosystem. Hemolytically active intestinal isolates cannot be considered safe until the effects of this virulence factor on animals are clarified. These findings provide a basis for selecting candidate *Bacillus* strains for probiotic development.

Keywords: sporobiota, hemolysis, biofilm, antibiotic resistance

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoz nadzor) within Research Project No. AAAA-A20-120012790050-7 "Diagnostic monitoring of poultry gut microbiota responses to antimicrobial and probiotic agents for developing and implementing measures to ensure microbiome preservation and restoration".

For citation: Malik N. I., Chupahina N. A., Rusanov I. A., Malik E. V., Malenkova L. A., Samokhvalova N. S., Surogin M. V. Identification and some biological characteristics of *Bacillus* strains isolated from poultry large intestine. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 302–309. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-302-309>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Nataliya A. Chupahina, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Bacteriology, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, 5 Zvenigorodskoe shosse, Moscow 123022, Russia, n.chupahina@vgnki.ru

ВВЕДЕНИЕ

Микробиота кишечника играет важную роль в поддержании здоровья хозяина, поскольку она может обеспечивать организм различными питательными веществами, регулировать энергетический баланс и иммунный ответ, а также защищать от патогенов. Восстановление и поддержание стабильности кишечной микробиоты с помощью полезных бактерий было предложено в качестве потенциальной стратегии для предотвращения нежелательных последствий для здоровья кишечника взамен применения антибиотиков [1].

Проведенная за последнее десятилетие перепись филогенетического разнообразия бактерий, идентифицированных в кишечном тракте здоровой птицы, показывает, что до 60% родов, присутствующих в микробиоме кишечника, содержат спорообразующие бактерии, и эти роды составляют 30% от общей кишечной микробиоты [2, 3].

В исследованиях микробиома спорообразующие бактерии предложено рассматривать как отдельную функциональную группу в составе глобальной микробиоты. Для обозначения всей совокупности спорообразующих бактерий в микробной популяции был предложен термин sporobiota [4].

Эндоспоры образуются у представителей *Firmicutes* – большого, разнообразного и морфологически сложного типа бактерий [5]. В рамках этого типа представители семейства *Bacillaceae* рода *Bacillus* привлекают пристальное научное внимание, поскольку охватывают наиболее значимые для модуляции кишечной микробиоты виды [6].

Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* чаще ассоциированы с почвенным микробиомом [7], а их присутствие в кишечнике связывают с употреблением кормов и воды. При этом априори считается, что бактерии рода *Bacillus* попадают в кишечник в спорной форме [8]. Однако накопленные данные свидетельствуют о том, что некоторые виды рода *Bacillus* рассматривают как микроорганизмы с бимодальным жизненным циклом, которые растут и образуют споры как в окружающей среде, так и в желудочно-кишечном тракте [9, 10].

Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* широко применяют в кормах для животных для улучшения роста животных и ингибирования патогенов [11, 12]. Механизмы пробиотического действия микроорганизмов этого рода связаны с синтезом антимикробных веществ и молочной кислоты [13], укреплением неспецифического иммунитета [14], высвобождением ферментов амилазы, липазы, протеазы, пектиназы и целлюлазы [15]. *Bacillus subtilis* стимулирует рост нормальной микрофлоры кишечника, увеличивает разнообразие кишечного микробиома [16], модулирует реактивность регуляторных систем для обновления эпителия кишечника и активность иммунных клеток [17] и нейтрализует негативное влияние различных факторов, особенно антибиотикотерапии [18, 19].

Также было показано, что *B. subtilis* играет важную роль в стимулировании развития кишечного-ассоциированной лимфоидной ткани и что именно споруляцию живых бацилл считают критически важной для этого процесса [20, 21].

Выживаемость и колонизацию в пищеварительном тракте считают необходимыми факторами функциональности и проявления физиологических функций микробиоты [22]. В этом аспекте важным условием для колонизации кишечника спорообразующими бактериями является прилипание спор к слизистой оболочке кишечника и дальнейшее формирование биопленок, при котором планктонные клетки переходят в прикрепленные формы [21, 23].

Термин «биопленка» используют для описания структурированного сообщества бактериальных клеток, заключенных в полимерный внеклеточный матрикс собственного производства, который прилипает к инертной или живой поверхности [24]. Полимерный внеклеточный матрикс представляет собой сложную систему, состоящую из экзополисахаридов, белка TasA, липидов, нуклеиновых кислот и различных гетерополимеров, секретируемых микроорганизмами во внеклеточную среду [25]. Проведенные исследования показали, что белок TasA и экзополисахарид являются основными компонентами биопленки. TasA – это амилоидный белок, который, как было установлено, участвует в формировании матрикса биопленки микроорганизмами, включая и спорообразующие бактерии [26, 27, 28, 29].

Бактериальные биопленки могут защищать бактерии от воздействия окружающей среды, иммунного ответа хозяина, противомикробных средств и антибиотиков [30].

Устанавливать наличие способности у бактерий синтезировать амилоиды с помощью красителя конго красного было предложено D. J. Freeman et al. для выявления образующих слизь или биопленку *Staphylococcus* sp. [31]. Метод основан на морфологии и цвете колоний *Staphylococcus*, образующих и не образующих биопленки на агаре с конго красным. В дальнейших исследованиях была установлена возможность использования данного метода для выявления потенциальных биопленкообразователей среди широкого круга грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе и спорообразующих бактерий рода *Bacillus* [32, 33, 34].

Недавние данные свидетельствуют о том, что в биопленках протекает более активный процесс споруляции *Bacillus*, чем у планктонных клеток [35].

Возросшая угроза распространения антибиотикорезистентных вариантов патобионтов выдвигает на первый план направление исследований по оценке антибиотикорезистентности комменсальной кишечной микробиоты как потенциальных доноров детерминант резистентности.

В свете этой проблемы было высказано предположение, что спорообразующие бактерии могут иметь важное значение в распространении и накоплении генов устойчивости к антибиотикам из-за их способности противостоять лечению антибиотиками [36, 37]. Однако степень устойчивости к антибиотикам и способности к биопленкообразованию у представителей кишечной споробиоты по сути неизвестна.

Предыдущие исследования распространения устойчивости к антибиотикам и способности к формированию биопленок бактерий рода *Bacillus* были сосредоточены на небольшом количестве бактериальных видов и не охватывали изоляты, выделенные из кишечной микробиоты птицы [38, 39, 40, 41].

По-прежнему остается недостаточно изученной широта распространения гемолитической активности в кишечной популяции аэробных бактерий рода *Bacillus* и роль их гемолизина в поддержании целостности слизистой кишечника и не установлено, что продукция гемолизина не причиняет вреда хозяину. Негемолитические (γ -гемолитические) штаммы, как правило, считают безопасными для их хозяев, в то время как штаммы с гемолитической активностью считают патогенными [42, 43].

Учитывая современную концепцию о значении кишечной микробиоты в поддержании колонизационной резистентности кишечника, этот пробел в знаниях приводит к отсутствию понимания истинной роли аэробных спорообразователей рода *Bacillus* в кишечной микробиоте птицы, специфичности в выборе и применении их в качестве пробиотиков [44, 45].

Актуальность работы заключается в том, что оценка безопасности аэробных спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, которые широко используются в технологии производства пробиотических кормовых добавок, связана не только с видовой идентификацией, но и с индивидуальными особенностями штаммов.

Новизна полученных данных состоит в том, что, оценивая перспективы использования бактерий рода *Bacillus* для создания пробиотических кормовых добавок, изучены некоторые биологические свойства изолятов, выделенных из слепых отростков толстого отдела кишечника промышленной птицы.

Цель работы – исследование биологических свойств изолятов бактерий рода *Bacillus* (гемолитическая активность, потенциальная способность к биопленкообразованию и антибиотикорезистентность), выделенных из толстого отдела кишечника птицы с целью отбора штаммов, перспективных для использования в биотехнологии получения пробиотических продуктов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Спорообразующие бактерии, использованные в исследовании, были выделены из образцов содержимого слепых отростков толстого кишечника клинически здоровой птицы, полученной из хозяйств Московской области, благополучных по инфекционным заболеваниям. Птицу в виварии усыпляли с помощью CO₂ и вскрывали общепринятым методом. Все манипуляции с животными соответствовали этическим стандартам, принятым Европейской конвенцией ETS № 123.

Слепые отростки толстого кишечника изолировали путем наложения лигатур на границе с прямой кишкой, отсекали, помещали в отдельную емкость и перенесли в лабораторию с соблюдением холодовой цепи 2–8 °C. Не позднее 30 мин после получения изолированных отростков содержимое каждого выдавливали в стерильную одноразовую посуду и маркировали. Полученные аликвоты каждого образца химуса разводили забуференной пептонной водой в соотношении 1:100, ресуспендировали интенсивным перемешиванием до получения равномерной суспензии.

Для изоляции спорообразующих бактерий аликвоты прогревали на водяной бане при 65 °C в течение 45 мин [46].

Для получения изолированных колоний прогретые аликвоты штриховым посевом высевали на триптон-соевый агар (SCD-agar; HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия). Культивировали в аэробных условиях при

(37 ± 1) °C. Просмотр посевов проводили через 18, 24 и 36 ч культивирования.

Отбирали колонии, имеющие морфологические признаки бактерий рода *Bacillus*, и очищали повторным высевом на SCD-агар. Через 18 и 24 ч культивирования после визуальной оценки степени роста и микроскопии мазков, окрашенных по Граму, изоляты спорообразующих бактерий пересеивали на SCD-бульон (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия) и бульонные культуры вегетативных клеток использовали в работе.

Фенотипическая характеристика. Была проведена фенотипическая характеристика изолятов спорообразующих бактерий по морфологическим признакам, окрашиванию по Граму, гемолитической активности, каталазной активности, способности к биопленкообразованию и чувствительности к антибиотикам. Все тесты осуществляли в двух повторностях.

Идентификация изолятов. Фенотипическую идентификацию изолятов спорообразующих бактерий проводили с использованием коммерческих биохимических диагностических тест-панелей одноразового пользования API 50CHB (bioMérieux, Франция). Этот тест позволяет классифицировать бактериальные штаммы в соответствии с их способностью ферментировать 49 различных углеводов. Результаты анализировали с помощью программного обеспечения APIWEB™ (bioMérieux, Франция).

Тест на гемолитическую активность. Гемолитические свойства изолятов спорообразующих бактерий определяли с использованием колумбийского агара (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия) с добавлением 5% стерильной дефибринированной крови барана. Суточные культуры изолятов спорообразующих бактерий уколом высевали на поверхность агара. Учет реакции проводили через 24 ч после инкубации при (37 ± 1) °C. Изолят считали α-гемолитическим, когда колонии вызывали зеленое или коричневое изменение цвета окружающей среды, β-гемолитическим, когда истинный лизис эритроцитов приводил к образованию чистой, прозрачной зоны, окружающей колонии, и γ-гемолитическим, или негемолитическим, когда в окружающей среде не наблюдалось реакции [47].

Тест на каталазу. Каталазную активность бактериальных изолятов определяли в тесте с 10%-й перекисью водорода [48]. Выделение кислорода, заметное по образованию пузырьков газа, свидетельствует о продукции каталазы.

Тест на чувствительность к антибиотикам. Тест на чувствительность к антибиотикам изолятов бактерий рода *Bacillus* проводили диско-диффузионным методом [49]. Использовали стандартные диски, импрегнированные следующими антибиотиками в концентрациях от 5 до 30 µg/disk (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия): ципрофлоксацином (Cip 5), рифампицином (Rif 5), энрофлоксацином (Ex5), доксициклином (Do10), гентамицином (Gen10), неомицином (N30), цефазолином (Cz30), норфлоксацином (Nx10), бензилпенициллином (P100), пefлоксацином (Pf5), канамицином (K30), линкомицином (L15), азитромицином (AZM15), налидиксовой кислотой (NA30), хлорамфениколом (C30), окситетрациклином (O30), имипенемом (Ipm10), олеандомицином (Ol15), клиндамицином (Cd2), кларитромицином (Clr15), оксациллином (Ox1), ампициллином (Amp25).

Агаровые 18-часовые бактериальные культуры спорообразующих бактерий доводили по стандарту

МакФарланда до 0,5 ед. оптической плотности, втирали 250 мкл культуры в поверхность SCD-агара и расставляли с помощью диспенсера (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия) диски с антибиотиками по 8 шт. на чашку, затем помещали в термостат при (37 ± 1) °C на 20–24 ч.

Штаммы обозначались как резистентные (R), если концентрация указанных в документах EFSA (Европейское агентство по безопасности продуктов питания) антибиотиков превышала пороговый уровень для штаммов *Bacillus* [50]. Из-за отсутствия достоверных интерпретирующих документов для ряда антибиотиков штаммы *Bacillus*, образующие зоны ингибирования вокруг диска с антибиотиком менее 12 мм, считали устойчивыми к антибиотикам.

Определение продуцентов биопленки. Скрининг спорообразующих бактерий – потенциальных продуцентов биопленки – проводили качественным методом путем обнаружения внеклеточных амилоидных белков на сердечно-мозговом агаре (BHI-агар, HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия) с добавлением индикатора конго красного и 5% сахарозы [31].

Испытуемую суточную бульонную культуру засеивали уколом на BHI-агар с конго красным и помещали в термостат на 48 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °C. При просмотре визуально оценивали цвет и морфологию выросших колоний испытуемого изолята.

При взаимодействии конго красного с амилоидными белками биопленки образуется продукт, который придает колониям или темно-красный, или темно-коричневый цвет с черным основанием. Слабые продуценты биопленки обычно остаются розовыми, хотя иногда может наблюдаться потемнение в центре колоний. Изоляты, не способные формировать биопленку, образуют колонии белого или очень светло-розового цвета [51].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении исследования всего было выделено и идентифицировано до уровня вида 68 штаммов аэробных спорообразующих бактерий рода *Bacillus*.

Таблица 1

Гемолитическая активность и признак биопленкообразования у изолятов спорообразующих бактерий, выделенных из слепых отростков кишечника птицы

Table 1
Hemolytic activity and biofilm-forming capacity of spore-forming bacterial isolates from poultry cecal appendages

Видовая принадлежность изолята по стандартизированной системе API 50CHB	Всего изолятов	Количество гемолитически активных изолятов			Количество изолятов – потенциальных продуцентов биопленки
		тип гемолиза			
		<i>α</i>	<i>β</i>	<i>γ</i>	
<i>B. licheniformis</i>	26	0	4	6	23
<i>B. subtilis/amyloliquefaciens</i>	16	0	3	1	16
<i>B. megaterium</i>	3	0	2	1	2
<i>B. mycoides</i>	5	0	0	0	5
<i>B. cereus</i>	7	0	5	1	5
Неидентифицируемые виды	11	0	5	4	не исследовали
Итого	68	0	19	13	51

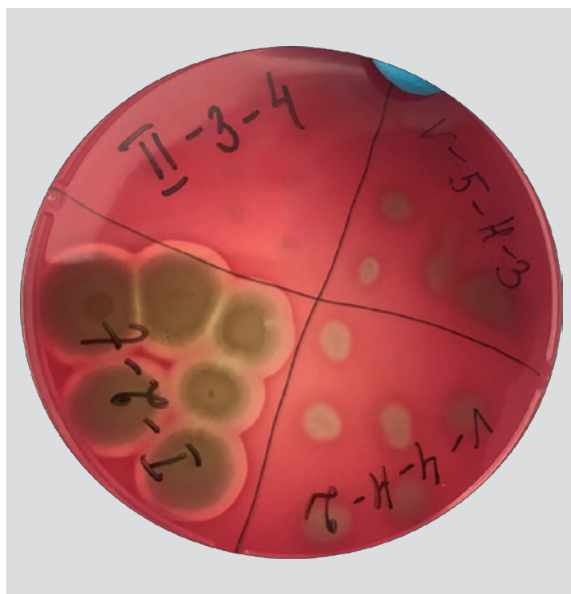


Рис. 1. Гемолитическая активность изолятов бактерий рода *Bacillus*, выращенных на SCD-агаре с добавлением крови барана при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч

Fig. 1. Hemolytic activity of *Bacillus* isolates cultured on sheep blood-supplemented SCD agar at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ for 24 hours

Фенотипические данные подтвердили принадлежность изолятов, выделенных из содержимого слепых отростков толстого отдела кишечника клинически здоровой птицы, к спорообразующим бактериям.

Идентифицированные изоляты спорообразующих бактерий были представлены 5 видами: *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*. Ряд изолятов не поддавался идентификации по стандартизированной системе API 50CHB.

Микроскопическое исследование выделенных клеток показало наличие разнообразной коллекции палочковидных бактерий, продуцирующих эндоспores различных размеров и форм.

Колонии спорообразующих бактерий отличались широким полиморфизмом. Изоляты *B. licheniformis* через 18–24 ч роста на SCD-агаре образовывали припод-

нятые среднего размера колонии, окрашенные в белый или бежевый цвет, в форме цветка.

При посеве на SCD-агар изолятов *B. subtilis/amyloliquefaciens* через 18–24 ч вырастали крупные белые, среднего размера с более светлой точкой в центре или шероховатые волнистые колонии бело-кремового цвета сухой мелкоморщинистой структуры, слегка приподнятые над поверхностью агара.

Изоляты *B. megaterium* на SCD-агаре образовывали резко окаймленные колонии грязно-белого цвета.

В морфологическом отношении колонии изолятов *B. mycoides* и *B. cereus* были идентичными и имели вид шероховатых, расплывающихся, ризоидных серо-белого цвета колоний с волнистыми краями или морщинистых молочного цвета колоний с волнистыми краями.

Выделенные изоляты спорообразующих бактерий были оценены на предмет их безопасности по гемолитической активности (табл. 1).

Все изоляты спорообразующих бактерий, выделенных из образцов химуса слепых отростков кишечника цыплят, не обладали α -гемолической активностью. У 14 из 57 исследованных изолятов видов *B. licheniformis*, *B. subtilis/amyloliquefaciens*, *B. megaterium* и *B. cereus* при росте на кровяном агаре наблюдали широкую зону гемолиза, характерную для β -гемолитических бактерий (рис. 1). Было обнаружено, что 9 изолятов спорообразующих бактерий обладают γ -гемолитической активностью.

Большинство изученных изолятов спорообразующих микроорганизмов, выросших на BHI-агаре с конго красным, по окраске колоний темно-красного цвета с черным основанием были отнесены к потенциальным образователям биопленок, за исключением 3 изолятов *B. licheniformis*, 1 изолята *B. megaterium* и 2 изолятов *B. cereus*, образующих светлые розовые колонии (рис. 2).

Тесты на чувствительность к антибиотикам показали, что большая часть изученных изолятов спорообразующих бактерий были чувствительны ко всем 22 исследованным антибиотикам (табл. 2).

Только 4 изолята спорообразующих бактерий были резистентны к рифампицину, 7 – к цефазолину, 12 – к линкомицину, 6 – к окситетрациклину. Некоторые изоляты оказались резистентными к 2 антибиотикам, но большинство изолятов проявляли резистентность не более чем к одному антибиотику.

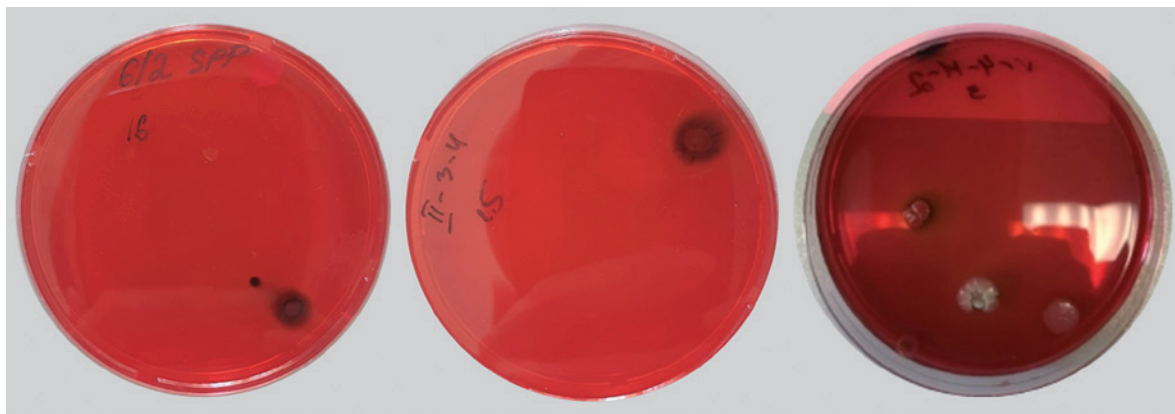


Рис. 2. Изоляты бактерий рода *Bacillus*, инкубированные на BHI-агаре с конго красным при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч

Fig. 2. *Bacillus* isolates cultured on Congo red-supplemented BHI agar at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ for 24 hours

Таблица 2
Профили чувствительности 57 спорообразующих изолятов к антибиотикам, определенные диско-диффузионным методом
Table 2
Antibiotic sensitivity profiles of 57 spore-forming isolates determined using disk diffusion method

№ п/п	Тип диска с антибиотиком	Количество чувствительных к антибиотику изолятов				
		<i>B. licheniformis</i> (n = 26)	<i>B. subtilis/ amyloliquefaciens</i> (n = 16)	<i>B. megaterium</i> (n = 3)	<i>B. mycoides</i> (n = 5)	<i>B. cereus</i> (n = 7)
1	Ципрофлоксацин (5 µg/disk)	+	+	+	+	+
2	Рифампицин (5 µg/disk)	2	1	1	+	+
3	Энрофлоксацин (5 µg/disk)	+	+	+	+	+
4	Доксициклин (10 µg/disk)	+	+	+	+	+
5	Гентамицин (10 µg/disk)	+	+	+	+	+
6	Неомицин (30 µg/disk)	+	+	+	+	+
7	Цефазолин (30 µg/disk)	3	+	1	+	3
8	Норфлоксацин (10 µg/disk)	+	+	+	+	+
9	Бензилпенициллин (100 µg/disk)	+	+	+	+	+
10	Пефлоксацин (5 µg/disk)	+	+	+	+	+
11	Канамицин (30 µg/disk)	+	+	+	1	+
12	Линкомицин (15 µg/disk)	8	3	1	+	+
13	Азитромицин (15 µg/disk)	+	2	+	+	+
14	Налидиксовая кислота (30 µg/disk)	+	+	+	+	+
15	Хлорамфеникол (30 µg/disk)	+	+	+	+	+
16	Окситетрациклин (30 µg/disk)	2	2	+	1	1
17	Имипенем (10 µg/disk)	+	+	+	+	+
18	Олеандомицин (15 µg/disk)	+	+	+	+	+
19	Ампициллин (25 µg/disk)	+	+	+	+	+
20	Клиндамицин (2 µg/disk)	+	+	+	+	+
21	Кларитромицин (15 µg/disk)	+	+	+	+	+
22	Оксациллин (1 µg/disk)	+	+	+	+	+

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследований идентифицированные виды спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, выделенные из слепых отростков кишечника промысленной птицы, включали: *B. licheniformis*, *B. subtilis/amyloliquefaciens*, *B. mycoides*, *B. megaterium* и *B. cereus*, ряд изолятов не поддавался идентификации.

Все изученные изоляты были каталазоположительными, не обладали α-гемолитической активностью. У части изолятов отмечена β-гемолитическая активность, что не позволяет рассматривать их как непатогенные.

Дополнительно была исследована потенциальная способность выделенных изолятов к биопленкообразованию, что косвенно характеризует возможность их выживания в кишечнике. Подавляющее большинство изолятов относились к потенциальным биопленкообразующим фенотипам и проявляли чувствительность к 22 тестируемым антибиотикам.

Гемолитически активные кишечные изоляты спорообразующих бактерий не могут считаться безопасными

до выяснения действия этого фактора вирулентности на организм животных.

Результаты исследований могут быть использованы при отборе кандидатных штаммов бактерий рода *Bacillus*, выбранных в качестве пробиотиков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Von Martels J. Z., Sadabad M. S., Bourgonje A. R., Blokzijl T., Dijkstra G., Faber K. N., Harmsen H. J. M. The role of gut microbiota in health and disease: *in vitro* modeling of host-microbe interactions at the aerobe-anaerobe interphase of the human gut. *Anaerobe*. 2017; 44: 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.01.001>

2. Kearney S. M., Gibbons S. M., Poyet M., Gurry T., Bullock K., Allegretti J. R., et al. Endospores and other lysis-resistant bacteria comprise a widely shared core community within the human microbiota. *The ISME Journal*. 2018; 12 (10): 2403–2416. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0192-z>

3. Lan P. T. N., Hayashi H., Sakamoto M., Benno Y. Phylogenetic analysis of cecal microbiota in chicken by the use of 16S rDNA clone libraries. *Microbiology and Immunology*. 2002; 46 (6): 371–382. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2002.tb02709.x>

4. Tetz G, Tetz V. Introducing the sporobiota and sporobiome. *Gut Pathogens*. 2017; 9 (1):38. <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0187-8>

5. Elshagabee F. M., Rokana N., Gulhane R. D., Sharma C., Panwar H. *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives.

- Frontiers in Microbiology. 2017; 8:1490. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490>
6. Egan M., Dempsey E., Ryan C. A., Ross R. P., Stanton C. The sporobiota of the human gut. *Gut Microbes*. 2021; 13 (1):e1863134. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1863134>
 7. Zeigler D. R., Perkins J. B. The Genus *Bacillus*. In: *Practical Handbook of Microbiology*. Ed. by L. H. Green, E. Goldman. 4th ed. Boca Raton: CRC Press; 2021; Chapter 22: 249–278. <https://doi.org/10.1201/9781003099277>
 8. Priest F. G. Systematics and Ecology of *Bacillus*. In: *Bacillus subtilis and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology, and Molecular Genetics*. Ed. by A. L. Sonenshein, J. A. Hoch, R. Losick. Washington: American Society for Microbiology; 1993; Chapter 1: 1–16. <https://doi.org/10.1128/9781555818388.ch1>
 9. Barbosa T. M., Serra C. R., La Ragione R. M., Woodward M. J., Henriques A. O. Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005; 71 (2): 968–978. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.968-978.2005>
 10. Hoa T. T., Duc L. H., Isticato R., Baccigalupi L., Ricca E., Van P. H., Cutting S. M. Fate and dissemination of *Bacillus subtilis* spores in a murine model. *Applied and Environmental Microbiology*. 2001; 67 (9): 3819–3823. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.3819-3823.2001>
 11. Mohammed A. A., Zaki R. S., Negm E. A., Mahmoud M. A., Cheng H. W. Effects of dietary supplementation of a probiotic (*Bacillus subtilis*) on bone mass and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*. 2021; 100 (3):100906. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.073>
 12. Abramowicz K., Krauze M., Ognik K. The effect of a probiotic preparation containing *Bacillus subtilis* PB6 in the diet of chickens on redox and biochemical parameters in their blood. *Annals of Animal Science*. 2019; 19 (2): 433–451. <https://doi.org/10.2478/aoas-2018-0059>
 13. Леляк А. А., Штерншис М. В. Антагонистический потенциал сиби́рских штаммов *Bacillus* spp. в отношении возбудителей болезней животных и растений. *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2014; (1): 42–55. <https://elibrary.ru/tgwlvz>
 - Lelyak A. A., Shternshis M. V. Antagonistic potential of Siberian strains of *Bacillus* spp. towards agents causing animal and plant diseases. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2014; (1): 42–55. <https://elibrary.ru/tgwlvz> (in Russ.)
 14. Dong Y., Li R., Liu Y., Ma L., Zha J., Qiao X., et al. Benefit of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* BYS2 on growth performance, immune response, and disease resistance of broilers. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2020; 12: 1385–1397. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09643-w>
 15. Смирнов В. В., Резник С. Р., Кудрявцев В. А., Осадчая А. И., Сафронова Л. А. Внеклеточные аминокислоты аэробных спорообразующих бактерий. *Микробиология*. 1992; 61 (5): 865–872.
 - Smirnov V. V., Reznik S. R., Kudriavtsev V. A., Osadchaia A. I., Safronova L. A. Extracellular amino acids of aerobic spore-forming bacteria. *Mikrobiologiya*. 1992; 61 (5): 865–872. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1287408> (in Russ.)
 16. Wu B. Q., Zhang T., Guo L. Q., Lin J. F. Effects of *Bacillus subtilis* KD1 on broiler intestinal flora. *Poultry Science*. 2011; 90 (11): 2493–2499. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01529>
 17. Sumi C. D., Yang B. W., Yeo I.-C., Hahm Y. T. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Canadian Journal of Microbiology*. 2015; 61 (2): 93–103. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0613>
 18. Horosheva T. V., Vodyanov V., Sorokulova I. Efficacy of *Bacillus* probiotics in prevention of antibiotic-associated diarrhoea: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *JMM Case Reports*. 2014; 1 (3):e004036. <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.004036>
 19. Sorokulova I. Modern status and perspectives of *Bacillus* bacteria as probiotics. *Journal of Probiotics & Health*. 2013; 1 (4):e106. <https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000e106>
 20. Duc L. H., Hong H. A., Uyen N. Q., Cutting S. M. Intracellular fate and immunogenicity of *B. subtilis* spores. *Vaccine*. 2004; 22 (15–16): 1873–1885. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2003.11.021>
 21. Lu S., Na K., Li Y., Zhang L., Fang Y., Guo X. *Bacillus*-derived probiotics: metabolites and mechanisms involved in bacteria – host interactions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2024; 64 (6): 1701–1714. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2118659>
 22. Kubota H., Sendai S., Nomura N., Tokuda H., Uchiyama H. Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2008; 106 (4): 381–386. <https://doi.org/10.1263/jbb.106.381>
 23. Todorov S. D., Ivanova I. V., Popov I., Weeks R., Chikindas M. L. *Bacillus* spore-forming probiotics: benefits with concerns? *Critical Reviews in Microbiology*. 2022; 48 (4): 513–530. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1983517>
 24. Costerton J. W., Stewart P. S., Greenberg E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999; 284 (5418): 1318–1322. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>
 25. Branda S. S., Vik Å., Friedman L., Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. *Trends in Microbiology*. 2005; 13 (1): 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.006>
 26. Lasa I., Penadés J. R. Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation. *Research in Microbiology*. 2006; 157 (2): 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.11.003>
 27. Taglialegra A., Lasa I., Valle J. Amyloid structures as biofilm matrix scaffolds. *Journal of Bacteriology*. 2016; 198 (19): 2579–2588. <https://doi.org/10.1128/jb.00122-16>
 28. Akbey Ü., Andreassen M. Functional amyloids from bacterial biofilms – structural properties and interaction partners. *Chemical Science*. 2022; 13 (22): 6457–6477. <https://doi.org/10.1039/D2SC00645F>
 29. Cámara-Almirón J. Structural and functional study of bacterial amyloids in *Bacillus subtilis*: Author's thesis. Universidad de Málaga; 2020. <https://hdl.handle.net/10630/19863>
 30. Fazeli-Nasab B., Sayyed R. Z., Mojahed L. S., Rahmani A. F., Ghafari M., Antonius S., Sukanto. Biofilm production: a strategic mechanism for survival of microbes under stress conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2022; 42:102337. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102337>
 31. Freeman D. J., Falkner F. R., Keane C. T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*. 1989; 42 (8): 872–874. <https://doi.org/10.1136/jcp.42.8.872>
 32. Saxena N., Maheshwari D., Dadhich D., Singh S. Evaluation of Congo red agar for detection of biofilm production by various clinical *Candida* isolates. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*. 2014; 3 (59): 13234–13238. <https://doi.org/10.14260/jemds/2014/3761>
 33. Branda S. S., Chu F., Kearns D. B., Losick R., Kolter R. A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix. *Molecular Microbiology*. 2006; 59 (4): 1229–1238. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.05020.x>
 34. Romero D., Aguilar C., Losick R., Kolter R. Amyloid fibers provide structural integrity to *Bacillus subtilis* biofilms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107 (5): 2230–2234. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910560107>
 35. Lindsay D., Brözel V. S., Von Holy A. Spore formation in *Bacillus subtilis* biofilms. *Journal of Food Protection*. 2005; 68 (4): 860–865. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.4.860>
 36. Bengtsson-Palme J., Abramova A., Berendonk T. U., Coelho L. P., Forslund S. K., Gschwind R., et al. Towards monitoring of antimicrobial resistance in the environment: For what reasons, how to implement it, and what are the data needs? *Environment International*. 2023; 178: 108089. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108089>
 37. Dulya O., Mikryukov V., Shchepkin D. V., Pent M., Tamm H., Guazzini M., et al. A trait-based ecological perspective on the soil microbial antibiotic-related genetic machinery. *Environment International*. 2024; 190:108917. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108917>
 38. Berić T., Biočanin M., Stanković S., Dimkić I., Janakiev T., Fira Đ., Lozo J. Identification and antibiotic resistance of *Bacillus* spp. isolates from natural samples. *Archives of Biological Sciences*. 2018; 70 (3): 581–588. <https://doi.org/10.2298/ABS180302019B>
 39. Adamski P., Byczkowska-Rostkowska Z., Gajewska J., Zakrzewski A. J., Kłębukowska L. Prevalence and antibiotic resistance of *Bacillus* sp. isolated from raw milk. *Microorganisms*. 2023; 11 (4):1065. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041065>
 40. Kowalska J., Maćkiw E., Stasiak M., Kucharek K., Postupolski J. Biofilm-forming ability of pathogenic bacteria isolated from retail food in Poland. *Journal of Food Protection*. 2020; 83 (12): 2032–2040. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-135>
 41. Morikawa M. Beneficial biofilm formation by industrial bacteria *Bacillus subtilis* and related species. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2006; 101 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.1>
 42. Bernheimer A. W., Avigad L. S. Nature and properties of a cytolytic agent produced by *Bacillus subtilis*. *Microbiology*. 1970; 61 (3): 361–369. <https://doi.org/10.1099/00221287-61-3-361>
 43. AlGuburi A., Volski A., Cugini C., Walsh E. M., Chistyakov V. A., Mazanko M. S., et al. Safety properties and probiotic potential of *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 and *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895. *Advances in Microbiology*. 2016; 6 (6): 432–452. <https://doi.org/10.4236/aim.2016.66043>
 44. Deng F., Chen Y., Sun T., Wu Y., Su Y., Liu C., et al. Antimicrobial resistance, virulence characteristics and genotypes of *Bacillus* spp. from probiotic products of diverse origins. *Food Research International*. 2021; 139:109949. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109949>
 45. Похиленко В. Д., Перельгин В. В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность. *Химическая и биологическая безопасность*. 2007; (2–3): 20–41. http://www.cbsafety.ru/rus/saf_32_2.asp
 - Pokhilenko V. D., Perelygin V. V. Probiotics on the basis of spore-forming bacteria and their safety. *Chemical and Biological Safety*. 2007; (2–3): 20–41. https://www.cbsafety.ru/rus/saf_32_2.asp (in Russ.)

46. Otiniano N. M., Farfán-Córdova M., Cabeza J. G., Cabanillas-Chirinos L. Isolation and selection of spore-forming bacilli with potential for self-healing of concrete. *Scientific Reports*. 2024; 14:27223. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77241-9>

47. Buxton R. Blood agar plates and hemolysis protocols. *American Society for Microbiology*. 30 September 2005. 9 p. <https://asm.org/getattachment/7ec0de2b-bb16-4f6e-ba07-2aea25a43e76/protocol>

48. ОФС.1.7.2.0012.15. Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков. *Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание*. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-7/1-7-2/proizvodstvennye-probioticheskie-shtammy-i-shtammy-dlya-kontrolya-probiotikov>

General Pharmacopoeia Monograph GPM.1.7.2.0012.15. Production probiotic strains and strains for probiotic control. *The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed.* <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-7/1-7-2/proizvodstvennye-probioticheskie-shtammy-i-shtammy-dlya-kontrolya-probiotikov> (in Russ.)

49. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: рекомендации Межрегиональной ассоциации

по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Версия 2021-01. <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf>

Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial agents: recommendations of the Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. Version 2021-01. <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf> (in Russ.)

50. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*. 2012; 10 (6):2740. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2740>

51. Okouakoua F. Y., Kayath C. A., Mokemiabeka S. N., Moukala D. C. R., Kaya-Ongoto M. D., Nguimbi E. Involvement of the *Bacillus* SecYEG pathway in biosurfactant production and biofilm formation. *International Journal of Microbiology*. 2024; 2024:6627190. <https://doi.org/10.1155/2024/6627190>

Поступила в редакцию / Received 10.04.2025

Поступила после рецензирования / Revised 30.06.2025

Принята к публикации / Accepted 31.07.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Малик Нина Ивановна, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник отдела научного планирования и НИР ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4695-1077>, nimalik@vgnki.ru

Чупахина Наталия Александровна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0000-8358-0618>, n.chupahina@vgnki.ru

Русанов Иван Анатольевич, старший научный сотрудник научно-технологической лаборатории ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0008-3388-2990>, rusanov@vgnki.ru

Малик Евгений Васильевич, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник отдела научного планирования и НИР ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7836-3010>, evmalik@vgnki.ru

Маленкова Лия Андреевна, старший научный сотрудник отдела бактериологии ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3149-8625>, l.malenkova@vgnki.ru

Самохвалова Надежда Сергеевна, научный сотрудник отдела бактериологии ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-3519-7838>, n.samokhvalova@vgnki.ru

Сурогин Михаил Витальевич, канд. вет. наук, заведующий отделом бактериологии, ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0003-1870-4292>, surogin@vgnki.ru

Nina I. Malik, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Department of Scientific Planning and Research, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4695-1077>, nimalik@vgnki.ru

Nataliya A. Chupahina, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Department of Bacteriology, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0000-8358-0618>, n.chupahina@vgnki.ru

Ivan A. Rusanov, Senior Researcher, Scientific and Technological Laboratory, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0008-3388-2990>, rusanov@vgnki.ru

Evgeniy V. Malik, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Department of Scientific Planning and Research, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7836-3010>, evmalik@vgnki.ru

Liya A. Malenkova, Senior Researcher, Department of Bacteriology, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3149-8625>, l.malenkova@vgnki.ru

Nadezhda S. Samokhvalova, Researcher, Department of Bacteriology, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-3519-7838>, n.samokhvalova@vgnki.ru

Mikhail V. Surogin, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Department of Bacteriology, The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0003-1870-4292>, surogin@vgnki.ru

Вклад авторов: Малик Н. И. – научное руководство, проведение исследований, методология, формальный анализ, написание текста статьи; Чупахина Н. А. и Русанов И. А. – исследование, формальный анализ и обработка данных, составление таблиц, подготовка цифровых снимков; Малик Е. В. – формальный анализ, обработка данных, подготовка текста статьи; Маленкова Л. А. и Самохвалова Н. С. – подбор и анализ литературных источников по теме; Сурогин М. В. – редактирование текста.

Contribution of the authors: Malik N. I. – scientific supervision, research implementation, methodology, formal analysis, manuscript writing; Chupahina N. A. and Rusanov I. A. – investigation, formal analysis and data processing, table preparation, digital image preparation; Malik E. V. – formal analysis, data processing, article manuscript preparation; Malenkova L. A. and Samokhvalova N. S. – literature review and analysis; Surogin M. V. – text editing.



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-310-318>
УДК 619:614.3:579.842.14:615.33.015.8



Антибиотикорезистентность бактерий рода *Salmonella*, выявленных в продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.

О. А. Акулич, Н. Б. Шадрова, Г. С. Денисова

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Несмотря на тот факт, что антибиотики – величайшее открытие человечества, они могут нанести огромный ущерб и привести к серьезным последствиям при нецелесообразном использовании.

Цель исследования. Исследование образцов животноводческой продукции с последующим выделением изолятов бактерий рода *Salmonella*, их типированием, определением и оценкой динамики развития антибиотикорезистентности.

Материалы и методы. Работу выполняли на базе отдела микробиологических исследований Владимирской испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ». Для определения устойчивости бактерий к антибиотикам применяли диско-диффузионный метод. Значения зон задержки роста микроорганизмов интерпретировались согласно российским рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к antimикробным препаратам» (МАКМАХ, версия 2025-01), подготовленным на основе рекомендаций Европейского комитета по определению чувствительности к antimикробным препаратам (EUCAST) и с использованием стандарта CLSI M100. Серологическую идентификацию проводили с помощью моно- и поливалентных О- и Н-сывороток «ПЕТСАЛ»® (ФГУП СПбНИИС ФМБА России). Гены антибиотикорезистентности (*bla*CTX-M, *bla*OXA10, *bla*DHA, *bla*GES, *bla*KPC, *bla*OXA48-like, *bla*NDM, *bla*VIM) определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с применением тест-систем серии «РЕЗИСТОМ» (ООО НПФ «Литех», Россия).

Результаты. При исследовании образцов продукции животного происхождения в 2022–2024 гг. выявлено 42 изолята бактерий рода *Salmonella*. Наиболее часто детектируемый изолят – *S. Enteritidis*, а преобладающий продукт, в котором обнаруживали бактерии рода *Salmonella*, – продукция из мяса птицы. Выявленные изоляты имели максимальную резистентность к бензилпенициллину, эритромицину, норфлоксацину и тетрациклину. Большинство из них проявили множественную устойчивость сразу к нескольким antimикробным препаратам. Отмечен рост резистентности к цефалоспорином, фторхинолонам, тетрациклином, аминогликозидам, хлорамфениколу/левомицетину и сульфаметоксазолу/триметоприму. При исследовании методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени гены антибиотикорезистентности не обнаружены.

Заключение. Показано значительное распространение устойчивости к antimикробным препаратам, в том числе множественной, среди изолятов бактерий рода *Salmonella*, выявленных в продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.

Ключевые слова: бактерии рода *Salmonella*, антибиотикорезистентность, гены антибиотикорезистентности, антибиотики, чувствительность к antimикробным препаратам, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Акулич О. А., Шадрова Н. Б., Денисова Г. С. Антибиотикорезистентность бактерий рода *Salmonella*, выявленных в продукции животного происхождения в 2022–2024 гг. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (3): 310–318. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-310-318>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Акулич Ольга Андреевна, аспирант ФГБУ «ВНИИЗЖ», ул. Гвардейская, 6, мкр. Юрьевец, г. Владимир, 600901, Россия, akulich.olga@yandex.ru

Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. detected in animal products in 2022–2024

Olga A. Akulich, Natalya B. Shadrova, Galina S. Denisova

Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia

ABSTRACT

Introduction. Although antibiotics represent one of humanity's greatest discoveries, their improper use can cause significant harm and lead to severe consequences.

Objective. Testing of animal product samples followed by *Salmonella* spp. isolation, typing, identification and assessment of their antimicrobial resistance dynamics.

Materials and methods. The study was carried out at the Department for Microbiological Testing of the Vladimir Testing Laboratory of the Federal Centre for Animal Health. The disc diffusion test was used to determine bacteria resistance to antibiotics. The sizes of the microorganism growth inhibition zones were interpreted according to the Russian recommendations "Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs" (IACMAC, version 2025-01), prepared on the basis of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) recommendations and using CLSI M100 standard. PETSAL® monovalent and polyvalent O- and H-sera (The Saint Petersburg Scientific Research Institute of Vaccines and Serums of the FMBA of Russia) were used for serological identification. Antimicrobial resistance genes (*bla*CTX-M, *bla*OXA10, *bla*DHA, *bla*DES, *bla*KPC, *bla*OXA48-like, *bla*NDM, *bla*VIM) were identified by real-time polymerase chain reaction using the RESISTOM test systems ("LITECH" Co. Ltd., Russia).

© Акулич О. А., Шадрова Н. Б., Денисова Г. С., 2025

Results. Forty-two *Salmonella* spp. isolates were recovered from animal product samples in 2022–2024. *S. Enteritidis* was the most frequently isolated serovar, and *Salmonella* spp. were predominantly isolated from poultry meat products. The detected isolates demonstrated maximum resistance to benzylpenicillin, erythromycin, norfloxacin, and tetracycline. Most of the isolates showed multiple resistance to several antimicrobials. Increased resistance to cephalosporins, fluoroquinolones, tetracyclines, aminoglycosides, chloramphenicol/levomycetin and sulfamethoxazole/trimethoprim was demonstrated for *Salmonella* spp. isolates. No antimicrobial resistance genes were detected when the isolates were tested with real-time polymerase chain reaction.

Conclusion. The study demonstrated widespread antimicrobial resistance, including multiple resistance, among *Salmonella* spp. isolates detected in animal products in 2022–2024.

Keywords: *Salmonella* spp., antimicrobial resistance, antimicrobial resistance genes, antibiotics, antimicrobial susceptibility, real-time polymerase chain reaction

Acknowledgements: The study was funded by the Federal Centre for Animal Health within the research topic "Veterinary Welfare".

For citation: Akulich O. A., Shadrova N. B., Denisova G. S. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. detected in animal products in 2022–2024. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (3): 310–318. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-3-310-318>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Olga A. Akulich, Postgraduate Student, Federal Centre for Animal Health, 6 Gvardeyskaya str., Yur'evets, Vladimir 600901, Russia, akulich.olgand@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

В 2024 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала список 24 резистентных к антибиотикам бактериальных патогенов, среди которых особенно выделяются грамотрицательные бактерии, устойчивые к противомикробным препаратам последнего поколения, в том числе бактерии рода *Salmonella* [1].

Антибиотикорезистентность – это проблема, затрагивающая все страны и требующая скоординированного подхода и действий на всех уровнях: здравоохранение, сельское хозяйство, окружающая среда, производство продуктов питания (в 2019 г., по данным ВОЗ, проблема вошла в десятку основных угроз глобальному здравоохранению) [2, 3, 4].

Некорректное и бесконтрольное использование антибиотиков является основным фактором, ведущим к развитию устойчивости к противомикробным препаратам. Особенно подвержены риску работники сельского хозяйства, учитывая тот факт, что в этой отрасли используется до 50–80% всех антибиотиков [5, 6].

В связи с тем, что здоровье человека, животных, растений и окружающей среды, в том числе экосистем, тесно взаимосвязано и взаимозависимо, для борьбы с устойчивостью к противомикробным препаратам объединились ВОЗ, ФАО (Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций), ЮНЕП (Программа Организаций Объединенных Наций по окружающей среде) и ВОЖЗ (Всемирная организация здравоохранения животных) в рамках концепции «Единое здоровье». ВОЗ создала Глобальную систему надзора за устойчивостью к противомикробным препаратам и их применением (GLASS) с единой методологией, а также в 2001 г. опубликовала Глобальную стратегию ВОЗ по сдерживанию резистентности к противомикробным препаратам. В 2022 г. ВОЗ была запущена Глобальная стратегия геномного эпиднадзора за возбудителями болезней, обладающих пандемическим и эпидемическим потенциалом, 2022–2032 гг. [7].

В рамках борьбы с устойчивостью к препаратам ФАО опубликовала призыв полностью отказаться от применения антибиотиков в целях профилактики и в качестве стимуляторов роста в животноводстве

и аквакультуре. Наряду с этим комиссией ФАО/ВОЗ по стандартам на пищевые продукты «Кодекс Алиментариус» были приняты жесткие нормативы предельно допустимых уровней остаточного содержания лекарственных препаратов.

Кроме того, в рамках 79-й сессии Генеральной Ассамблеи Организации Объединенных Наций мировые лидеры приняли политическую декларацию, в которой взяли на себя обязательство по достижению четких целей, связанных с борьбой с устойчивостью к лекарственным препаратам.

В России проблема антибиотикорезистентности также обозначена на законодательном уровне. В 2017 г. распоряжением Правительства РФ № 2045-р была утверждена «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года», которая определила государственную политику по ограничению распространения устойчивости микроорганизмов. В 2024 г. распоряжением Правительства РФ № 2214-р был утвержден план мероприятий на 2025–2030 гг. по реализации указанной стратегии, включающий вопросы нормативно-правового регулирования, информирования населения, системного мониторинга и другие, связанные с антибиотикорезистентностью.

Наряду с этим с 2022 г. в сфере ветеринарии действует перечень лекарственных препаратов, в отношении которых вводится ограничение на применение в лечебных целях (утвержден приказом Минсельхоза России от 18.11.2021 № 771), а с 2025 г. вступил в силу порядок назначения лекарственных препаратов для ветеринарного применения и перечень лекарственных средств для ветеринарного применения, отпускаемых по рецепту (утвержден приказом Минсельхоза России от 02.11.2022 № 776).

В 2024 г. в г. Москве была проведена первая Международная конференция БРИКС по антимикробной резистентности.

С целью контроля остаточного содержания лекарственных средств в пищевой продукции решением Совета Евразийской экономической комиссии от 23.06.2023 № 70 были внесены изменения в технические регламенты Таможенного союза, касающиеся

установления допустимых уровней к 75 препаратам, а также новых требований представления информации о применяемых ветпрепаратах.

Одной из противодействующих мер в вопросах распространения антибиотикорезистентности является постоянное наблюдение за изменением чувствительности патогенов к антимикробным препаратам. С целью проведения анализа данных резистентности к антибактериальным лекарственным средствам в России существует онлайн-платформа AMRмар и другие AMR-сервисы: веб-продукты, посвященные вопросам антимикробной резистентности.

Бактерии рода *Salmonella* являются одной из четырех основных причин диарейных болезней во всем мире. Ежегодно заболевания, вызываемые исключительно бактериями рода *Salmonella*, уносят жизни более 200 000 человек во всем мире [8, 9].

В течение последних 10 лет в Российской Федерации проблема сальмонеллезов продолжает оставаться актуальной ввиду существующих рисков инфицирования в условиях интенсивно развивающегося сельского хозяйства. Так, согласно государственным докладам Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в 2024 г. в РФ заболеваемость сальмонеллезом составила 24,68 случая на 100 тыс. населения; в 2023 г. – 21,45 случая; в 2022 г. – 17,10 случая и в 2021 г. – 13,61 случая на 100 тыс. населения^{1,2,3,4}.

Наиболее часто выявляемыми сероварами, вызывающими заболевания во всех странах, остаются: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* и *S. Infantis*. Частота выделения других сероваров зависит от региона [10, 11].

В настоящее время происходит увеличение числа устойчивых к лечению антибиотиками инфекций, в том числе вызванных бактериями рода *Salmonella*. Вместе с тем резистентные к лекарственным препаратам бактерии рода *Salmonella* представляют значительную угрозу для жизни населения и животного мира из-за своей широкой распространенности и способности заражать в том числе воду. Пищевая продукция – основной фактор передачи возбудителей сальмонеллеза [12, 13, 14].

Учитывая изложенное, целью работы было исследование образцов животноводческой продукции из трех регионов Центральной России (Владимирская, Костромская и Ивановская области) с последующим выделением изолятов бактерий рода *Salmonella*, типированием, определением и оценкой динамики антибиотикорезистентности в период с 2022 по 2024 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили в отделе микробиологических исследований Владимирской испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ». Использовали 42 изолята бактерий рода *Salmonella*, выделенных из продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.

¹ https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=21796

² <https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/b50/t4kqksh4b12a2iwnha29922vu7nak15/GD-SEB.pdf>

³ https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=27779

⁴ https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/b8a/u6lsxjabw032jkdf837nlaezxu3ue09m/GD_SEB.pdf

Реактивы и питательные среды: забуференная пептонная вода (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия), магниевая среда Раппапорта – Вассилиадиса (RVS-бульон; Merck KGaA, Германия), селенитовый бульон (Merck KGaA, Германия), триптон-соевый агар (TSA; Scharlau, Испания), ксилозо-лизиновый дезоксихолатный агар (XLD-агар; ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия), висмут-сульфитный агар (VSA; Merck KGaA, Германия), агар Мюллера – Хинтона (МНА; ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия).

Микробиологический анализ проводили по ГОСТ 31659-2012 «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*». Навеску продукта (25 г) вносили в стерильный пакет с забуференной пептонной водой объемом 225 см³, гомогенизировали 1 мин и инкубировали при температуре 37 °C в течение 18–20 ч.

Полученные культуры пересевали (1 см³) в среды для селективного обогащения: RVS-бульон (10 см³) и селенитовый бульон (10 см³) – и инкубировали в течение 24 ч при температуре (41,5 ± 1,0) °C и 37 °C соответственно. Затем из каждой пробирки делали пересев штрихом бактериологической петлей согласно ГОСТ 26670-91 «Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов» на две селективные агаризованные среды: XLD-агар и VSA – с последующим инкубированием при температуре 37 °C в течение (24 ± 3) ч.

Для идентификации отобранных колоний с ростом, характерным для бактерий рода *Salmonella*, и получения изолированных колоний осуществляли пересев с последующим культивированием на поверхности подсушенного TSA с дрожжевым экстрактом при температуре 37 °C в течение (24 ± 3) ч.

Принадлежность выросших колоний к бактериям рода *Salmonella* подтверждали посредством биохимических тестов API 20E (bioMérieux, Франция) и иммуноферментного анализа с использованием анализатора Mini Vidas (bioMérieux, Франция).

Серологическая идентификация. В рамках работы была проведена серологическая идентификация изолятов бактерий рода *Salmonella*, выделенных с применением реакции агглютинации на стекле с моно- и поливалентными О- и Н-сыворотками сухими диагностическими адсорбированными промышленного производства «ПЕТСАЛ»® (ФГУП СПБНИИВС ФМБА России). Серологический вариант штамма определялся на основании серологической формулы в соответствии со схемой Кауфмана – Уайта согласно МУ 4.2.4070-24 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды: методические указания» (утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 27.09.2024).

Определение антибиотикорезистентности. Чувствительность к антимикробным препаратам выделенных изолятов бактерий рода *Salmonella* определяли диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания».

Антибиотики (бумажные диски производства ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии

им. Пастера», Россия): азитромицин 15 мкг, амикацин 30 мкг, амоксициллин 20 мкг, ампициллин/сульбактам 10 мкг, бензилпенициллин 10 ЕД/6 мкг, гентамицин 10 мкг, доксициклин 30 мкг, имипенем 10 мкг, канамицин 30 мкг, левофлоксацин 5 мкг, меропенем 10 мкг, норфлоксацин 10 мкг, сульфаметоксазол/триметоприм 23,75/1,25 мкг, стрептомицин 10 мкг, тетрациклин 30 мкг, хлорамфеникол/левомицетин 30 мкг, цефазолин 30 мкг, цефотаксим 30 мкг, цефуроксим 30 мкг, цiproфлоксацин 5 мкг, эритромицин 15 мкг.

Для определения антибиотикорезистентности использовали бактериальную суспензию с оптической плотностью 0,5 по стандарту МакФарланда, приготовленную из суточной культуры изолятов бактерий рода *Salmonella*, выросших на TSA. Плотность суспензии измеряли с помощью денситометра VITEK BIOMERIEUX model DENSICHEK (Франция).

В стерильные чашки Петри диаметром 100 мм наливали по 20 мл расплавленного TSA. Бактериальную суспензию не позднее 15 мин после ее приготовления инокулировали на подсушенную поверхность агара МНА с помощью стерильного хлопкового тампона штриховыми движениями без промежутков, затем размещали диски на поверхности агара (4 диска на одну чашку Петри). После аппликации дисков с антибиотиками чашки Петри инкубировали при 37 °C в течение (18 ± 2) ч. Оценку результатов осуществляли по наличию зон задержки роста микроорганизмов вокруг дисков, измеряя с точностью до 1 мм на темной матовой поверхности на расстоянии примерно 30 см от глаз при помощи линейки под углом 45°.

Интерпретацию результатов проводили согласно российским рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к antimикробным препаратам» (МАКМАХ, версия 2025-01), подготовленным на основе рекомендаций Европейского комитета по определению чувствительности к antimикробным препаратам (EUCAST), и с использованием стандарта CLSI M100. В настоящее время комплекс подходов к оценке чувствительности и интерпретации результатов, предлагаемый EUCAST, является теоретически наиболее обоснованным [15, 16, 17].

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. Для выделения ДНК бактерий рода *Salmonella* в работе использовали набор «Сорб-ГМО-Б» (ЗАО «Синтол», Россия).

Изучение молекулярно-генетических свойств выделенных изолятов бактерий рода *Salmonella* на наличие генов антибиотикорезистентности (blaCTX-M, blaOXA10, blaDHA, blaGES, blaKPC, blaOXA48-like, blaNDM, blaVIM) было проведено с применением тест-систем серии «РЕЗИСТОМ» (ООО НПФ «Литех», Россия) согласно инструкции производителя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований образцов продукции животного происхождения выявлено 42 изолята бактерий рода *Salmonella*: 15 изолятов – в 2022 г., 11 изолятов – в 2023 г., 16 изолятов – в 2024 г.).

Морфологические и культуральные свойства выделенных изолятов бактерий *Salmonella* были характерны для своего семейства и рода.

На рисунке 1 видно, что в рамках проведенных исследований чаще всего бактерии рода *Salmonella* обнаруживали в продукции из мяса птицы – 36 изоля-



Рис. 1. Распределение частоты выявления изолятов бактерий рода *Salmonella* в образцах продукции животного происхождения в 2022–2024 гг. по источникам выделения

Fig. 1. Frequency of *Salmonella* spp. isolate detection in animal product samples in 2022–2024, by isolation source

тов (85,7%), в частности в мясе кур – 24 изолята (57,1%). При этом, по данным Европейского центра профилактики и контроля заболеваний (ECDC), в Европейском союзе наиболее зараженной бактериями рода *Salmonella* продукцией на этапе распространения являются мясо птицы и полуфабрикаты, приготовленные из мяса птицы. В мясе и мясной продукции из индейки, а также в свинине аналогично определен высокий уровень загрязнения [10, 18].

При серологической идентификации было установлено, что большинство изолятов бактерий рода *Salmonella* относятся к группе O:9 (D1) – 18 (42,9%) и группе O:7 (C1) – 13 (30,9%), еще 7 изолятов (16,7%) – к группе O:4 (B), 4 изолята (9,5%) – к группе O:8 (C2–C3). Результаты отражены на рисунке 2.

При серотипировании среди изолятов бактерий рода *Salmonella* чаще всего выявляли (рис. 3): *S. Enteritidis* – 14 (33,3%), *S. Blegdam* – 3 (7,1%), *S. Derby* – 2 (4,8%). При этом *S. Enteritidis* и *S. Derby* чаще обнаруживали в продукции из утки, а *S. Blegdam* – в мясе кур. Вместе с тем было установлено, что из 17 нетипируемых изолятов бактерий рода *Salmonella* (40,5%) 11 (26,2%) приходились на группу O:7 (C1).

В рамках исследования был проведен анализ устойчивости изолятов бактерий рода *Salmonella* к 21 лекарственному препарату. Полученные результаты представлены на рисунке 4.

Установлен относительно высокий общий уровень резистентности к ряду антибиотиков среди изолятов бактерий рода *Salmonella*, выделенных из продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.

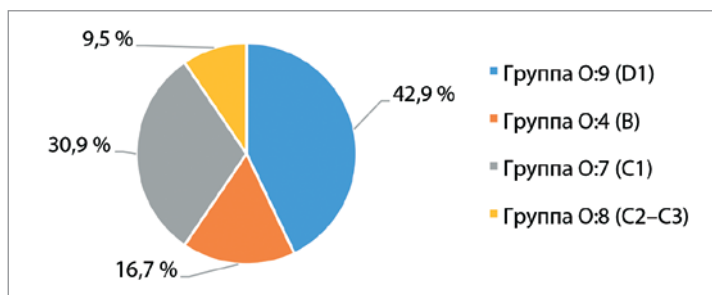


Рис. 2. Выявление O-групп изолятов бактерий рода *Salmonella*, выделенных из образцов продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.

Fig. 2. Identification of O-groups of *Salmonella* spp. isolates recovered from samples of animal products in 2022–2024

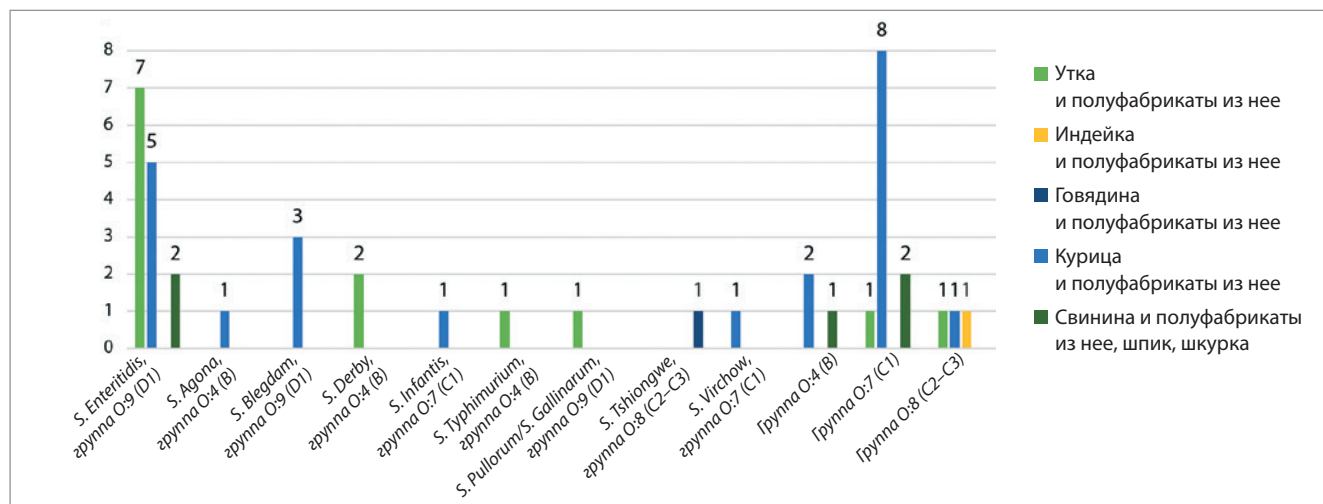


Рис. 3. Серогрупповая принадлежность изолятов бактерий рода *Salmonella*, выделенных из образцов продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.

Fig. 3. Serotyping of *Salmonella* spp. isolates recovered from animal product samples in 2022–2024

Максимальная частота устойчивости у изолятов бактерий рода *Salmonella* наблюдалась к эритромицину (80,9%), бензилпенициллину (78,6%), норфлоксацину (69,0%) и тетрациклину (40,5%).

Следует отметить, что все изоляты бактерий рода *Salmonella* оказались чувствительны к меропенему и имипенему.

В начале 2025 г. был опубликован «Сводный отчет Европейского союза об устойчивости к противомикробным препаратам зоонозных и индикаторных бактерий, обнаруженных у людей, животных и в продуктах питания в 2022–2023 гг.», где также представлена информация о том, что большая часть изолятов *Salmonella* резистентна в том числе к тетрациклину и сульфаниламидам. Кроме того, в нескольких странах наблюдалась

тенденция к росту устойчивости к ципрофлоксацину и цефалоспорином третьего поколения [19].

Эти и другие исследования [20] говорят о важности мониторинга чувствительности бактерий рода *Salmonella* ввиду роста резистентности к ряду критически важных противомикробных препаратов.

Наряду с этим в рамках испытаний установлено, что 90% изолятов бактерий рода *Salmonella* устойчивы более чем к одному антибиотику из исследуемых. Кроме того, 38% изолятов резистентны более чем к трем классам лекарственных средств.

Как видно на рисунке 5, устойчивость сразу к трем антимикробным препаратам продемонстрировали 13 изолятов (31,0%), к двум – 8 изолятов (19,0%), к восьми – 5 изолятов (11,9%).

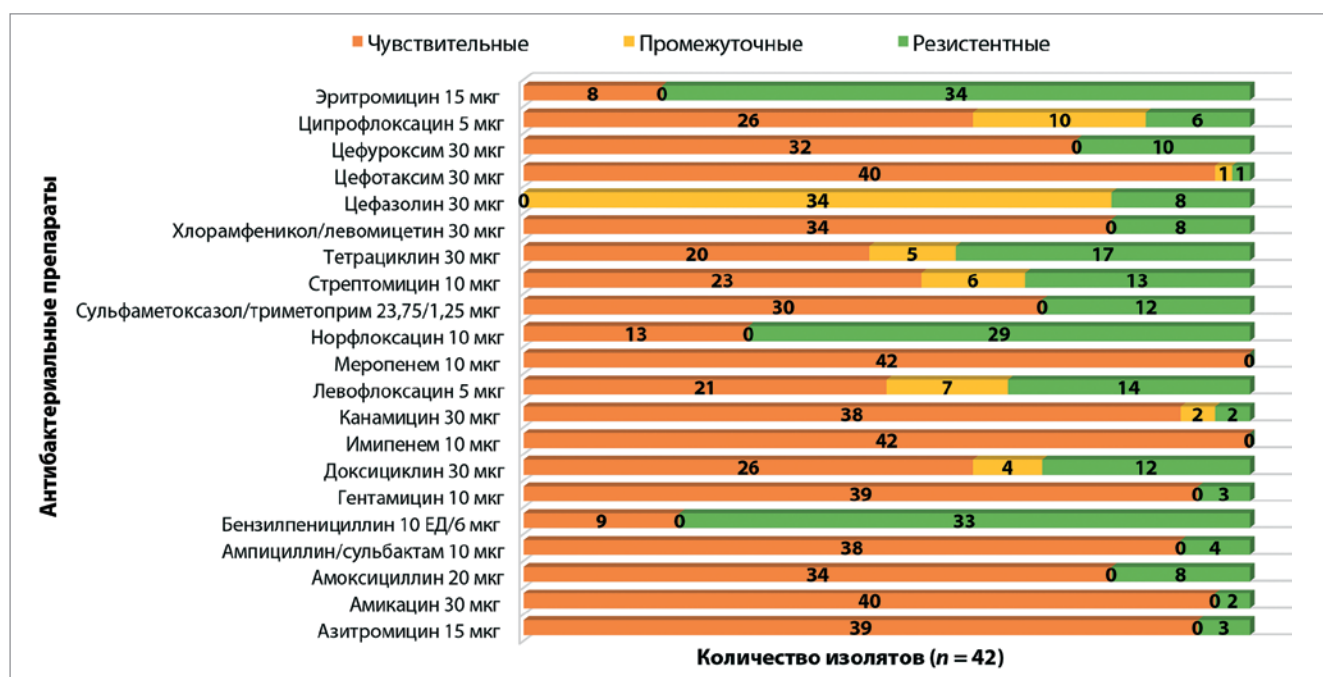


Рис. 4. Антибиотикорезистентность изолятов бактерий рода *Salmonella*, выделенных из продукции животного происхождения в 2022–2024 гг.

Fig. 4. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolates recovered from animal products in 2022–2024

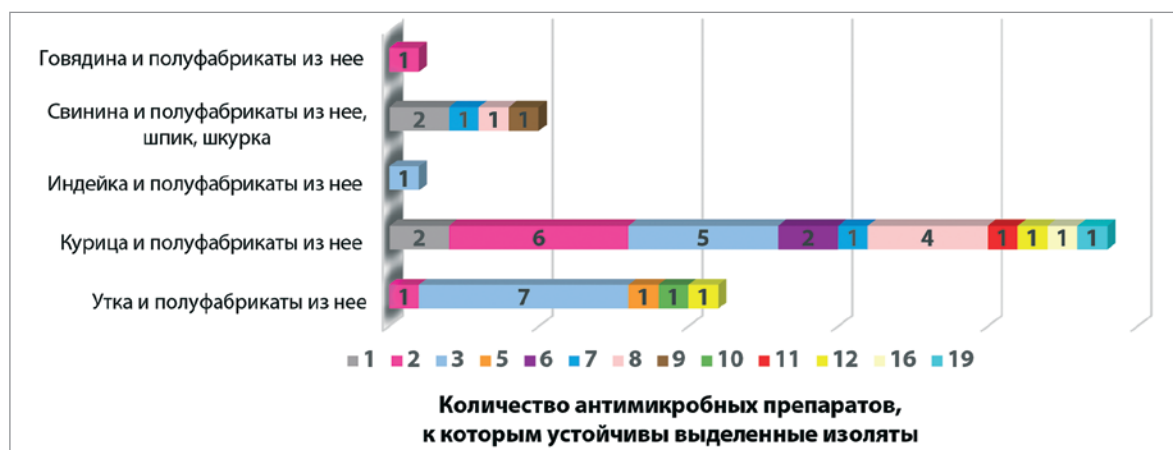


Рис. 5. Количество изолятов бактерий рода *Salmonella*, выделенных из образцов животноводческой продукции в 2022–2024 гг., со множественной антибиотикорезистентностью

Fig. 5. Number of *Salmonella* spp. isolates demonstrating multiple antimicrobial resistance recovered from animal product samples in 2022–2024

Также в рамках работы выявлен изолят, резистентный сразу к 16 антибиотикам, и изолят, имеющий устойчивость к 19 антибиотикам из 21 используемого. Оба изолята относятся к группе O:4 (B) и обнаружены в мясе кур.

Как следует из государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году», большинство устойчивых микроорганизмов рода *Salmonella* были выявлены в мясе птицы, яйцах и продуктах их переработки (97,2%), мясе и мясoproдуктах (95,1%)⁵.

Исследования некоторых авторов также показывают, что большая часть выделяемых из продукции бактерий рода *Salmonella* резистентны как минимум к одному классу противомикробных препаратов. Так, Европейский центр профилактики и контроля заболеваний (ECDC) информирует о том, что люди, инфицированные *Salmonella* в Европейском союзе, часто имеют устойчивость к противомикробным препаратам, при этом более чем в 20% случаев – как минимум к трем классам противомикробных препаратов. Вместе с тем, по данным ВОЗ, с каждым годом растет антибиотикорезистентность к фторхинолонам и цефалоспорином [1, 18, 21, 22].

В настоящее время сообщения о множественной резистентности бактерий рода *Salmonella* появляются чаще. Изучение бактерий рода *Salmonella*, детектируемых в свиноводческой продукции, дает информацию о высокой их устойчивости к тетрациклину, стрептомицину и сульфаметоксазолу/триметоприму [23, 24].

В ходе работы по исследованию выделенных из свиноводческой продукции бактерий рода *Salmonella* были получены аналогичные результаты, а также отмечена высокая резистентность к эритромицину 80% изолятов.

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в государственном докладе за 2024 г. информирует о выявленной устойчивости бактерий рода *Salmonella* к одному и более лекарственным препаратам, при этом наибольшая резистентность устанавливалась к тетрациклину, ципрофлоксацину и сульфаметоксазолу/триметоприму.

Таким образом, чрезмерное использование антибиотиков способствует распространению множественной устойчивости к целому ряду противомикробных препаратов, что влечет за собой более длительное и дорогостоящее лечение, а также летальные исходы и экономические потери, представляя особую опасность [25, 26].

Рисунок 6 демонстрирует динамику роста числа изолятов бактерий рода *Salmonella*, резистентных к антимикробным препаратам одного класса, в период с 2022 по 2024 г.

Для лечения сальмонеллезов наиболее перспективным направлением на протяжении довольно длительного времени остается использование цефалоспоринов, в частности третьего поколения, так как данные лекарственные препараты обладают высокой активностью в отношении бактерий рода *Salmonella*, устойчивостью к микробным бета-лактамазам, биодоступностью и безвредностью при коротких курсах лечения. Кроме того, к эффективным противомикробным препаратам с хорошим проникновением внутрь клетки относятся фторхинолоны, однако в последнее время к ним во всем мире у бактерий рода *Salmonella* развивается резистентность [27, 28].

В рамках исследования установлено (рис. 6А), что с 2022 г. возросла устойчивость изолятов бактерий рода *Salmonella* к цефалоспору первого поколения (цефазолу) – на 18,0% (в 2024 г. было устойчиво 5 изолятов из 16 выделенных – 31,3%), к цефалоспору второго поколения (цефуросиму) – на 50,0% (в 2024 г. было устойчиво 8 изолятов из 16 выделенных – 50,0%), к цефалоспору третьего поколения (цефотаксиму) – на 6,3% (в 2024 г. был устойчив 1 изолят из 16 выделенных – 6,3%, ранее резистентность у изолятов не обнаруживалась).

На рисунке 6В видно, что аналогичная ситуация наблюдалась в отношении норфлоксацина (фторхинолон второго поколения) – рост резистентности на 15,0% (в 2024 г. было устойчиво 12 изолятов из 16 выделенных – 75,0%), а также левофлоксацина (фторхинолон третьего поколения) – рост резистентности на 49,2% (в 2024 г. было устойчиво 10 изолятов из 16 выделенных – 62,5%).

Кроме того, изменилась устойчивость изолятов к хлорамфениколу/левомицетину (увеличение

⁵ https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/b8a/u6lsxjabw032jkd837nlaezxu3ue09m/GD_SEB.pdf

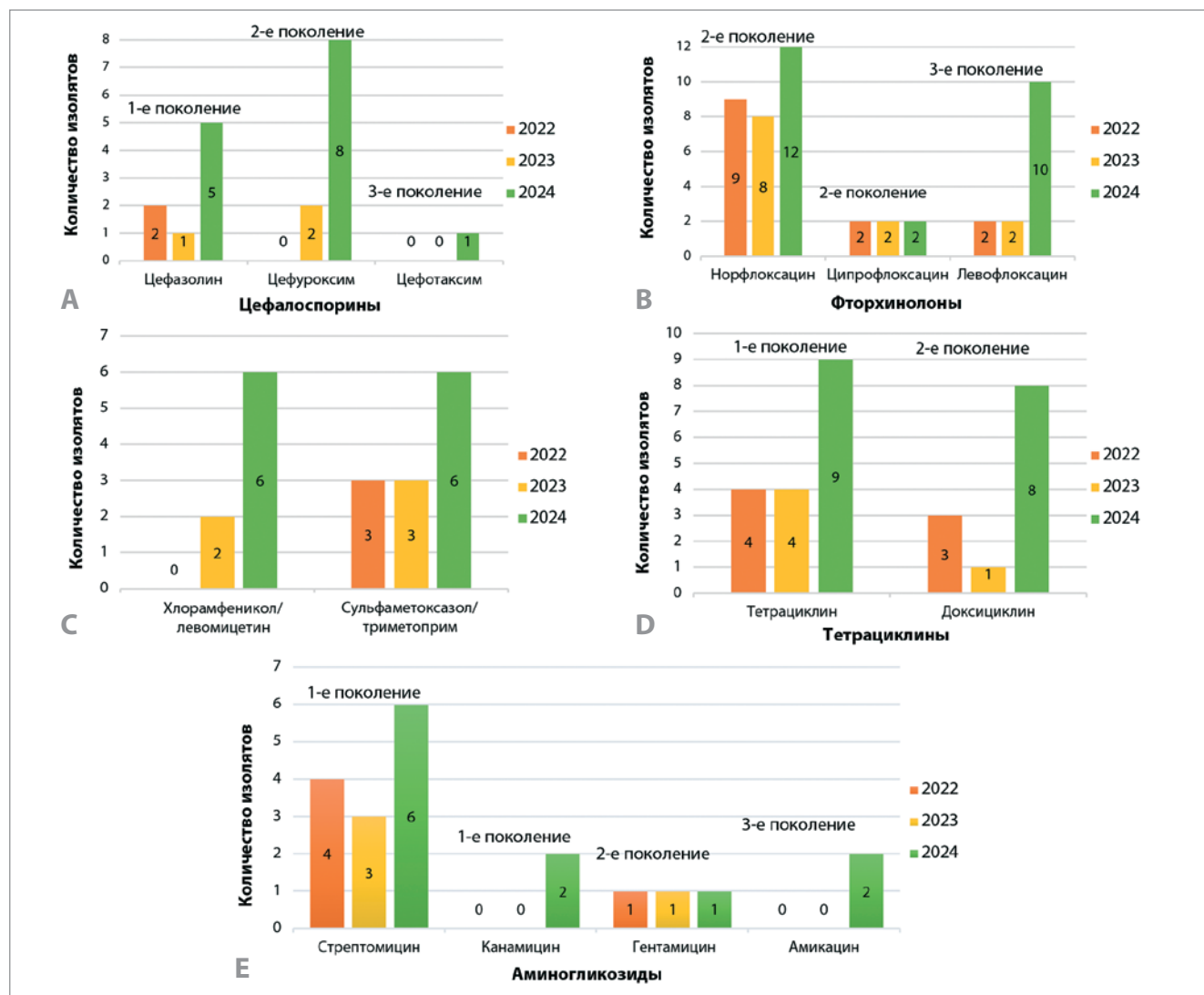


Рис. 6. Резистентность изолятов бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам:

А – цефалоспорины, Б – фторхинолоны, В – хлорамфеникол/левомицетин и сульфаметоксазол/триметоприм, Д – тетрациклины, Е – аминогликозиды

Fig. 6. Resistance of *Salmonella* spp. isolates to the following antibiotics: А – cephalosporins, Б – fluoroquinolones, В – chloramphenicol/levomycetin and sulfamethoxazole/trimethoprim, Д – tetracyclines, Е – aminoglycosides

на 37,5%) и сульфаметоксазолу/триметоприму (увеличение на 17,5%) в 2022–2024 гг. (рис. 6С).

Также определили высокий рост устойчивости в 2022–2024 гг. к тетрациклинам (рис. 6Д): тетрациклину (первое поколение) – на 29,6% (в 2024 г. было устойчиво 9 изолятов из 16 выделенных – 56,3%), доксициклину (второе поколение) – на 30,0% (в 2024 г. было устойчиво 8 изолятов из 16 выделенных – 50,0%).

При этом было отмечено повышение уровня резистентности микроорганизмов к антибиотикам группы аминогликозидов (рис. 6Е). Так, к амикацину (третье поколение) и канамицину (первое поколение) он вырос на 12,5% (в 2024 г. было устойчиво 2 изолята из 16 выделенных – 12,5%). В то же время значение устойчивости к стрептомицину (первое поколение) повысилось на 10,8% (в 2024 г. было устойчиво 6 изолятов из 16 выделенных – 37,5%).

В рамках работы у выделенных изолятов бактерий рода *Salmonella* генов антибиотикорезистентности *bla*CTX-M, *bla*OXA10, *bla*DHA, *bla*GES, *bla*KPC, *bla*OXA48-like, *bla*NDM, *bla*VIM не обнаружено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении исследования было выявлено 42 изолята бактерий рода *Salmonella*, при этом преобладающими сероварами являлись: *S. Enteritidis* – 14 (33,3%), *S. Blegdam* – 3 (7,1%), *S. Derby* – 2 (4,8%).

Показано значительное распространение устойчивости, в том числе множественной. При этом изоляты бактерий рода *Salmonella* имели максимальную резистентность к эритромицину (80,9%), бензилпенициллину (78,6%), норфлоксацину (69,0%) и тетрациклину (40,5%). Также все изоляты бактерий рода *Salmonella* были чувствительны к меропенему и имипенему.

Большинство изолятов бактерий рода *Salmonella* проявили устойчивость сразу к трем антимикробным препаратам (31,0%), также обнаружен изолят, имеющий устойчивость сразу к 19 антибиотикам из 21 используемого в рамках исследования.

Кроме того, отмечен рост резистентности среди изолятов бактерий рода *Salmonella* к цефалоспоринам: первого поколения (цефазолину) – на 18,0%, второго поколения (цефуроксиму) – на 50,0%, третьего

поколения (цефотаксиму) – на 6,3%; к фторхинолонам: второго поколения (норфлоксацину) – на 15,0%, третьего поколения (левофлоксацину) – на 49,2%; к тетрациклинам: первого поколения (тетрациклину) – на 29,6%, второго поколения (доксикацину) – на 30,0%.

Наряду с этим за исследуемый период с 2022 по 2024 г. на 37,5% увеличилась устойчивость изолятов к хлорамфениколу/левомицетину и на 17,5% – к сульфаметоксазолу/триметоприму.

Возросла резистентность и к аминогликозидам: к амикацину (третье поколение) и канамицину (первое поколение) – на 12,5%, к стрептомицину (первое поколение) – на 10,8%.

Генов антибиотикорезистентности (blaCTX-M, blaOXA10, blaDHA, blaGES, blaKPC, blaOXA48-like, blaNDM, blaVIM) у выделенных бактерий рода *Salmonella* не установлено.

Постоянный мониторинг качества продукции животного происхождения позволит своевременно выявлять популяционные изменения циркулирующих штаммов бактерий и разрабатывать эффективные стратегии контроля для снижения риска передачи резистентных штаммов и генов резистентности человеку. В то же время определение тенденции устойчивости к лекарственным препаратам выделяемых штаммов позволит в том числе избежать необоснованного назначения антибактериальных препаратов как в сфере ветеринарии, так и в сфере здравоохранения в рамках эпидемиологического надзора за сальмонеллезами, учитывая принцип «Единое здоровье».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024. 56 p. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>
2. World Health Organization. Ten threats to global health in 2019. <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019>
3. World health statistics 2024: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization; 2024. 86 p. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376869/9789240094703-eng.pdf>
4. Tarín-Pelló A., Suay-García B., Pérez-Gracia M.-T. Antibiotic resistant bacteria: current situation and treatment options to accelerate the development of a new antimicrobial arsenal. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2022; 20 (8): 1095–1108. <https://doi.org/10.1080/14787210.2022.2078308>
5. Di K. N., Pham D. T., Tee T. S., Binh Q. A., Nguyen T. C. Antibiotic usage and resistance in animal production in Vietnam: a review of existing literature. *Tropical Animal Health and Production*. 2021; 53 (3):340. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02780-6>
6. Мухина Е. Г., Артемьева М. А., Саунц Л. А., Тожибоева Б. Т. Социальная проблема антибиотикорезистентности. *Universum: медицина и фармакология*. 2017; (6). <https://7universum.com/ru/med/archive/item/4898>
7. Manyi-Loh C., Mamphweli S., Meyer E., Okoh A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications. *Molecules*. 2018; 23 (4):795. <https://doi.org/10.3390/molecules23040795>
8. Aleksandrowicz A., Carolak E., Dutkiewicz A., Błachut A., Waszczuk W., Grzymajlo K. Better together – *Salmonella* biofilm-associated antibiotic resistance. *Gut Microbes*. 2023; 15 (1):2229937. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2229937>
9. Wang B. X., Butler D. S. C., Hamblin M., Monack D. M. One species, different diseases: the unique molecular mechanisms that underlie the pathogenesis of typhoidal *Salmonella* infections. *Current Opinion in Microbiology*. 2023; 72:102262. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102262>
10. Li S., He Y., Mann D. A., Deng X. Global spread of *Salmonella* Enteritidis via centralized sourcing and international trade of poultry breeding stocks. *Nature Communications*. 2021; 12:5109. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25319-7>
11. Егорова С. А., Кафтырева Л. А., Помазанов В. В. Современные тенденции развития устойчивости бактерий рода *Salmonella* к клинически значимым антибиотикам (обзор литературы). *Клиническая лаборатор-*

ная диагностика. 2020; 65 (5): 308–315. <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-5-308-315>

12. World Animal Protection: Global public health cost of antimicrobial resistance related to antibiotic use on factory farms. <https://www.world-animalprotection.org.in/globalassets/pdfs/reports/english/global-public-health-technical-report.pdf>

13. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: food-borne disease burden epidemiology reference group 2007–2015. Geneva: World Health Organization; 2015. 254 p. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1

14. Wu S., Hulme J. P. Recent advances in the detection of antibiotic and multi-drug resistant *Salmonella*: an update. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22 (7):3499. <https://doi.org/10.3390/ijms22073499>

15. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: российские рекомендации. Версия 2025-01. Смоленск: СГМУ; МАКМАХ; 2025. 208 с. <https://www.antibiotic.ru/library/ocmap2025>

16. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 15.0, valid from 2025-01-01. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/QC/v_15.0_EUCAST_QC_tables_routine_and_extended_QC.pdf

17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2025. 428 p.

18. Salmonellosis. In: *European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report for 2022*. Stockholm: ECDC; 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2022>

19. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2022–2023. *EFSA Journal*. 2025; 23 (3):e9237. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9237>

20. Виткова О. Н., Белоусов В. И., Иванова О. Е., Базарбаев С. Б. Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных от животных и из пищевых продуктов животного происхождения на территории Российской Федерации. *Ветеринария Кубани*. 2015; (2): 11–15. <https://elibrary.ru/tppjdx>

21. Rakitin A. L., Yushina Y. K., Zaiko E. V., Bataeva D. S., Kuznetsova O. A., Semenova A. A., et al. Evaluation of antibiotic resistance of *Salmonella* serotypes and whole-genome sequencing of multiresistant strains isolated from food products in Russia. *Antibiotics*. 2022; 11 (1):1. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010001>

22. Мендыбаева А. М., Рузаускас М., Алешина Ю. Е., Алиева Г. К., Муканов Г. Б., Рыщанова Р. М. Оценка риска появления резистентности к антибиотикам условно-патогенной и патогенной микрофлоры, выделяемой из продуктов животного происхождения. *Вестник КрасАУ*. 2022; (2): 147–156. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-2-147-156>

23. Patchanee P., Tansirichareonkul K., Buawiratert T., Wiratsudakul A., Angchokchatchawal K., Yamsakul P., et al. *Salmonella* in pork retail outlets and dissemination of its pulsotypes through pig production chain in Chiang Mai and surrounding areas, Thailand. *Preventive Veterinary Medicine*. 2016; 130: 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.06.013>

24. Possebon F. S., Tiba Casas M. R., Nero L. A., Yamatogi R. S., Araújo J. P. Jr., Pinto J. P. A. N. Prevalence, antibiotic resistance, PFGE and MLST characterization of *Salmonella* in swine mesenteric lymph nodes. *Preventive Veterinary Medicine*. 2020; 179:105024. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105024>

25. Соловьева А. С., Шубин Ф. Н., Кузнецова Н. А. Антибиотикорезистентность штаммов *Salmonella enteritidis*, выделенных в Дальневосточном и Сибирском федеральном округах. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2017; (5): 15–21. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1115444>

26. Baquero F. Threats of antibiotic resistance: an obliged reappraisal. *International Microbiology*. 2021; 24 (4): 499–506. <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00184-y>

27. Wen S. C. H., Best E., Nourse C. Non-typhoidal *Salmonella* infections in children: review of literature and recommendations for management. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2017; 53 (10): 936–941. <https://doi.org/10.1111/jpc.13585>

28. Konyali D., Guzel M., Soyer Y. Genomic characterization of *Salmonella enterica* resistant to cephalosporin, quinolones, and macrolides. *Current Microbiology*. 2023; 80 (11):344. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03458-y>

REFERENCES

1. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024. 56 p. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>
2. World Health Organization. Ten threats to global health in 2019. <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019>

3. World health statistics 2024: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization; 2024. 86 p. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376869/9789240094703-eng.pdf>
4. Tarín-Pelló A., Suay-García B., Pérez-Gracia M.-T. Antibiotic resistant bacteria: current situation and treatment options to accelerate the development of a new antimicrobial arsenal. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2022; 20 (8): 1095–1108. <https://doi.org/10.1080/14787210.2022.2078308>
5. Di K. N., Pham D. T., Tee T. S., Binh Q. A., Nguyen T. C. Antibiotic usage and resistance in animal production in Vietnam: a review of existing literature. *Tropical Animal Health and Production*. 2021; 53 (3):340. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02780-6>
6. Mukhina E., Artemieva M., Sakunts L., Tozhiboeva B. The social problem of antibiotic resistance. *Univsum: Medicine & Pharmacology*. 2017; (6). <https://7universum.com/ru/med/archive/item/4898> (in Russ.)
7. Manyi-Loh C., Mamphweli S., Meyer E., Okoh A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications. *Molecules*. 2018; 23 (4):795. <https://doi.org/10.3390/molecules23040795>
8. Aleksandrowicz A., Carolak E., Dutkiewicz A., Błachut A., Waszczuk W., Grzymajlo K. Better together – *Salmonella* biofilm-associated antibiotic resistance. *Gut Microbes*. 2023; 15 (1):2229937. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2229937>
9. Wang B. X., Butler D. S. C., Hamblin M., Monack D. M. One species, different diseases: the unique molecular mechanisms that underlie the pathogenesis of typhoidal *Salmonella* infections. *Current Opinion in Microbiology*. 2023; 72:102262. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102262>
10. Li S., He Y., Mann D. A., Deng X. Global spread of *Salmonella* Enteritidis via centralized sourcing and international trade of poultry breeding stocks. *Nature Communications*. 2021; 12:5109. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25319-7>
11. Egorova S. A., Kaftyreva L. A., Pomazanov V. V. Current trends in the development of resistance to clinically significant antibiotics in *Salmonella* (review of literature). *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2020; 65 (5): 308–315. <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-5-308-315> (in Russ.)
12. World Animal Protection: Global public health cost of antimicrobial resistance related to antibiotic use on factory farms. <https://www.world-animalprotection.org.in/globalassets/pdfs/reports/english/global-public-health-technical-report.pdf>
13. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007–2015. Geneva: World Health Organization; 2015. 254 p. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1
14. Wu S., Hulme J. P. Recent advances in the detection of antibiotic and multi-drug resistant *Salmonella*: an update. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22 (7):3499. <https://doi.org/10.3390/ijms22073499>
15. Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs: Russian recommendations. Version 2025-01. Smolensk: Smolensk State Medical University; Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy; 2025. 208 p. <https://www.antibiotic.ru/library/ocmap2025> (in Russ.)
16. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 15.0, valid from 2025-01-01. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/QC/v_15.0_EUCAST_QC_tables_routine_and_extended_QC.pdf
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2025. 428 p.
18. Salmonellosis. In: *European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report for 2022*. Stockholm: ECDC; 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2022>
19. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2022–2023. *EFSA Journal*. 2025; 23 (3):e9237. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9237>
20. Vitkova O. N., Belousov V. I., Ivanova O. E., Bazarbaev S. B. Study of antibiotic resistance of *Salmonella* isolates from animals and fodders of animal origin on the territory of the Russian Federation. *Veterinaria Kubani*. 2015; (2): 11–15. <https://elibrary.ru/tppjdx> (in Russ.)
21. Rakitin A. L., Yushina Y. K., Zaiko E. V., Bataeva D. S., Kuznetsova O. A., Semenova A. A., et al. Evaluation of antibiotic resistance of *Salmonella* serotypes and whole-genome sequencing of multiresistant strains isolated from food products in Russia. *Antibiotics*. 2022; 11 (1):1. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010001>
22. Mendybaeva A. M., Ruzauskas M., Aleshina Yu. E., Alieva G. K., Mukanov G. B., Ryshchanova R. M. Opportunistic and pathogenic microflora antibiotics resistance risk assessment extracted from animal products. *Bulletin KrasSAU*. 2022; (2): 147–156. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-2-147-156> (in Russ.)
23. Patchanee P., Tansiricharoenkul K., Buawiratert T., Wiratsudakul A., Angchokchatchawal K., Yamsakul P., et al. *Salmonella* in pork retail outlets and dissemination of its pulsotypes through pig production chain in Chiang Mai and surrounding areas, Thailand. *Preventive Veterinary Medicine*. 2016; 130: 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.06.013>
24. Possebon F. S., Tiba Casas M. R., Nero L. A., Yamatogi R. S., Araújo J. P. Jr., Pinto J. P. A. N. Prevalence, antibiotic resistance, PFGE and MLST characterization of *Salmonella* in swine mesenteric lymph nodes. *Preventive Veterinary Medicine*. 2020; 179:105024. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105024>
25. Solov'yeva A. S., Shubin F. N., Kuznetsova N. A. Antibiotic resistance of *Salmonella enteritidis* sticks allocated in the Far Eastern and Siberian Federal Districts. *Health. Medical ecology. Science*. 2017; (5): 15–21. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1115444> (in Russ.)
26. Baquero F. Threats of antibiotic resistance: an obliged reappraisal. *International Microbiology*. 2021; 24 (4): 499–506. <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00184-y>
27. Wen S. C. H., Best E., Nourse C. Non-typhoidal *Salmonella* infections in children: review of literature and recommendations for management. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2017; 53 (10): 936–941. <https://doi.org/10.1111/jpc.13585>
28. Konyali D., Guzel M., Soyer Y. Genomic characterization of *Salmonella enterica* resistant to cephalosporin, quinolones, and macrolides. *Current Microbiology*. 2023; 80 (11):344. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03458-y>

Поступила в редакцию / Received 27.06.2025

Поступила после рецензирования / Revised 01.08.2025

Принята к публикации / Accepted 08.08.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Акулич Ольга Андреевна, аспирант ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; akulich.olgand@yandex.ru

Шадрова Наталья Борисовна, канд. биол. наук, заведующий отделом микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, shadrova@arriah.ru

Денисова Галина Сергеевна, канд. биол. наук, руководитель Владимирской испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0714-3912>, skitovich@arriah.ru

Olga A. Akulich, Postgraduate Student, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; akulich.olgand@yandex.ru

Natalya B. Shadrova, Cand. Sci. (Biology), Head of Department for Microbiological Testing, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, shadrova@arriah.ru

Galina S. Denisova, Cand. Sci. (Biology), Head of the Vladimir Testing Centre, Federal Centre for Animal Health, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0714-3912>, skitovich@arriah.ru

Вклад авторов: Акулич О. А. – проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка текста статьи, создание рисунков; Шадрова Н. Б. – формулировка ключевых целей и задач, редактирование текста статьи и утверждение окончательного варианта; Денисова Г. С. – формирование идеи, формулировка ключевых целей и задач, редактирование текста статьи.

Contribution of the authors: Akulich O. A. – testing, obtained data analysis and interpretation, paper text preparation, figure creation; Shadrova N. B. – formulation of key goals and objectives, paper text editing and approval of final paper text; Denisova G. S. – conceptualization, formulation of key goals and objectives, paper text editing.

К 75-летию Владимира Сергеевича Русалеева

Владимир Сергеевич Русалеев родился 6 июля 1950 г. в г. Мурманске. После окончания сельскохозяйственного техникума и службы в армии учился в Троицком ветеринарном институте в Челябинской области (1971–1976 гг.). Работал в Кустанайской областной ветеринарной лаборатории сначала ветврачом, затем заведующим отделением (1976–1980 гг.).

С января 1980 г. по декабрь 1982 г. учился в аспирантуре во Всесоюзном научно-исследовательском институте ветеринарной вирусологии и микробиологии (п. Вольгинский, Владимирская обл.), работал младшим научным сотрудником, в 1983 г. защитил кандидатскую диссертацию.

С 1984 по 1985 г. В. С. Русалеев обучался на курсах повышения квалификации по молекулярной биологии и генной инженерии в Научном центре биологических исследований АН СССР (г. Пущино, Московская обл.), а в 1986 г. прошел подготовку на курсах специализации по особо опасным инфекциям при Научно-исследовательском противочумном институте Кавказа и Закавказья Минздрава СССР.

С 1987 г. Владимир Сергеевич работал старшим преподавателем, затем доцентом Кустанайского сельскохозяйственного института, а в январе 1991 г. был принят докторантом лаборатории бактериальных инфекций Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (г. Казань). В октябре 1992 г. защитил докторскую диссертацию.

В сентябре 1993 г. В. С. Русалеев принят на работу во Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных старшим научным сотрудником бактериологического направления исследований, в 1994 г. был избран ведущим научным сотрудником, а с 1995 г. назначен заведующим лабораторией микробиологии, которой руководил до 2012 г. За этот период В. С. Русалеев подготовил 10 кандидатов и 1 доктора наук, в 2005 г. ему было присвоено ученое звание профессора.

Основным направлением научной деятельности В. С. Русалеева было изучение возбудителей экономически значимых болезней животных, таких как сальмонеллез, пастереллез, гемофильный полисерозит, актинобациллезная плевропневмония, атрофический ринит свиней и других. Под его руководством выделе-



ны и изучены изоляты бактерий, которые впоследствии были депонированы как производственные штаммы, разработаны, зарегистрированы и произведены инактивированные противобактериальные вакцины, которые широко и успешно применяли для профилактики перечисленных выше болезней.

Владимир Сергеевич является автором более 200 научных работ, патентов на изобретения, награжден медалями ВДНХ.

С 2012 по 2022 г. В. С. Русалеев работал в должности ученого секретаря, активно участвовал в подготовке научных кадров в аспирантуре и диссертационном совете ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Сегодня В. С. Русалеев находится на заслуженном отдыхе, а его ученики продолжают плодотворно трудиться во многих направлениях ветеринарной науки.

Мы поздравляем Владимира Сергеевича со знаменательной датой, желаем благополучия, сил, энергии и долгих лет счастливой жизни!

К 75-летию Константина Николаевича Груздева

В июле 2025 г. исполнилось 75 лет доктору биологических наук, профессору, трижды лауреату премии Правительства РФ в области науки и техники, заслуженному ветеринарному врачу РФ Константину Николаевичу Груздеву.

Константин Николаевич родился 24 июля 1950 г. в г. Нурлате Татарской АССР. В 1972 г. с отличием окончил Казанский ветеринарный институт имени Н. Э. Баумана. Затем служил в рядах Советской армии, работал главным ветеринарным врачом Ермишинского района Рязанской области. С 1974 по 2003 г. его профессиональная деятельность была связана со Всероссийским государственным Центром качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»), где он обучался в аспирантуре, а затем работал сначала младшим, потом старшим научным сотрудником, заведующим лабораторией, заведующим вирусологическим отделом, заместителем директора института.

В 1979 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук, в 1993 г. – доктора биологических наук, с 1999 г. – профессор по специальности «вирусология». В 2003–2007 гг. К. Н. Груздев являлся директором ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир). Возглавив институт в непростое для учреждения время, К. Н. Груздев много сил и энергии вложил в кардинальные преобразования организации работы учреждения с принципиальными изменениями устава его деятельности, создание новых научно-производственных направлений и структурных подразделений.

В 2007–2010 гг. – руководитель ветеринарной службы Владимирской области, директор департамента ветеринарии администрации Владимирской области.

В 2011 г. организовал и возглавил лабораторию по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ». С 2013 г. по настоящее время К. Н. Груздев – главный научный сотрудник информационно-аналитического центра данного учреждения, где продолжает заниматься многогранной научной деятельностью, одновременно являясь главным редактором научного журнала «Ветеринария сегодня», входящего в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК.

Лично и при непосредственном участии профессора К. Н. Груздева проведены исследования по изучению факторов патогенности, иммуногенности, генетических маркеров возбудителей классической чумы, трансмиссивного гастроэнтерита, респираторно-репродуктивного синдрома, африканской чумы свиней, бешенства



животных, предложены принципиально новые средства генодиагностики вирусных болезней животных.

Константин Николаевич Груздев – автор и соавтор свыше 350 работ, в том числе 9 монографий, научного пособия, справочника, 2 научно-популярных изданий. Научный приоритет выполненных работ подтвержден получением 9 авторских свидетельств и 15 патентов.

Под его руководством подготовлено и защищено 4 докторских и 12 кандидатских диссертаций.

Константин Николаевич Груздев представлял Россию в качестве координатора в Европейской ассоциации ветеринарных вирусологов, был членом экспертного совета по биобезопасности при Минпромнауки России, входил в состав оперативного штаба Правительства РФ по координации мероприятий по предупреждению распространения гриппа птиц, африканской чумы свиней, являлся членом экспертного совета ВАК. В настоящее время осуществляет взаимодействие со Всемирной организацией здравоохранения животных (ВОАН) по вопросам африканской чумы свиней, является экспертом GF-TADs по африканской чуме свиней.

За выдающиеся профессиональные достижения в области ветеринарной медицины 11 октября 2018 г. К. Н. Груздев отмечен сертификатом OIE (сейчас ВОАН).

Желаем Вам, дорогой Константин Николаевич, крепкого здоровья и многих лет научной творческой деятельности!

ЖУРНАЛ «ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ» ПРИГЛАШАЕТ АВТОРОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ СВОИХ НАУЧНЫХ РАБОТ

- Журнал основан в 2012 г. на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных».
- Статьи публикуются на двух языках: русском и английском.
- Основными направлениями являются результаты теоретических и экспериментальных исследований в области ветеринарии и ветеринарной микробиологии, тенденций развития ветеринарной науки, обсуждение актуальных вопросов в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных.
- Журнал распространяется по всей территории России, а также в крупнейших мировых научных центрах.
- Мы публикуем статьи как выдающихся, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работников ветеринарных учреждений для обмена опытом, обеспечения устойчивого ветеринарного благополучия и новых научных дискуссий.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА

- Изучение основных тенденций развития ветеринарной науки.
- Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных, представление результатов теоретических и экспериментальных исследований в данной области.
- Обсуждение актуальных вопросов ветеринарии.

ПОДРОБНЕЕ ОБ УСЛОВИЯХ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ

Адрес: 600901, Владимирская обл., г. Владимир, мкр. Юрвец, ул. Гвардейская, д. 6

Телефоны: +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88, доб. 22-27

Контактное лицо: Никешина Татьяна Борисовна,
e-mail: nikeshina@arriah.ru

Узнайте больше на сайте журнала
<https://veterinary.arriah.ru/jour>

**«Ветеринария сегодня» –
это прекрасная возможность
заявить о себе миру!**

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

К публикации принимаются статьи на двух языках – русском и английском, – содержащие результаты собственных научных исследований, объемом не менее 3000 слов для оригинальных статей и до 6000 слов – для обзора. Шрифт – Times New Roman (кириллица, 12 pt). Междустрочный интервал – одинарный.

Предоставление в редакцию рукописи статьи является подтверждением согласия автора на использование его произведения как в бумажном, так и в электронном виде. Авторы несут ответственность за полноту и достоверность цитируемой в их работах литературы, а также за публикацию заимствованного материала без ссылки на источник. Материалы направляются в редакцию с сопроводительным письмом от организации автора (форма на сайте).

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ

1. УДК

2. Название статьи

3. **Имя, отчество, фамилия авторов**, место работы, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты.

4. **Резюме** (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): 200–250 слов, но не более 2000 знаков. Для оригинальных статей резюме должно быть обязательно структурировано и включать разделы, отражающие порядок проведения исследования: *введение, цель исследования, материалы и методы, результаты, заключение*. Для обзоров и других типов публикаций структурирование резюме рекомендовано.

5. **Ключевые слова** (5–6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.

6. **Благодарности** (в случае финансирования исследования организацией или желания выразить благодарность определенным людям).

7. Для цитирования

8. Конфликт интересов

9. **Для корреспонденции** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, адрес, электронная почта).

10. Введение

11. Материалы и методы

12. Результаты и обсуждение

13. Выводы или заключение

14. **Список литературы** (ванкуверский стиль – расположение источников в порядке их цитирования; количество цитируемых работ в оригинальных статьях – около 30, в обзорах – не более 60).

15. **Информация об авторах** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, город, страна).

16. **Вклад авторов** (необходимо указать вклад авторов в подготовку статьи).

17. К размещению принимаются иллюстрированные материалы (фото, графики) хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tif или .jprg (рисунки, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно).

Работа должна быть представлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12 pt, межстрочный интервал – одинарный, размер полей – по 2 см, отступ в начале абзаца – 1 см, форматирование по ширине.

Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и уместиться в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком. Максимальное суммарное количество таблиц и рисунков в одной статье должно быть не более 5.

Оригиналы и копии присланных статей не возвращаются. Авторы должны гарантировать, что поданный материал не был ранее опубликован. Важным условием для принятия статей в журнал «Ветеринария сегодня» является выполнение всех вышеперечисленных требований редакции.



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
FEDERAL CENTRE FOR ANIMAL HEALTH (ARRIAH)

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО ЯЩУРУ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR FOOT AND MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО ГРИППУ ПТИЦ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR AVIAN INFLUENZA

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR NEWCASTLE DISEASE

ЦЕНТР ВОЗЖ ПО СОТРУДНИЧЕСТВУ В ОБЛАСТИ
ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛЯ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ЖИВОТНЫХ ДЛЯ СТРАН ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ,
ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ И ЗАКАВКАЗЬЯ
WOAH COLLABORATING CENTRE FOR DIAGNOSIS AND CONTROL OF VIRAL
ANIMAL DISEASES IN EASTERN EUROPE, CENTRAL ASIA AND TRANSCAUCASIA

РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЯЩУРУ
FAO REFERENCE CENTRE FOR FOOT-AND-MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЗООНОЗНЫМ
КОРОНАВИРУСАМ
FAO REFERENCE CENTRE FOR ZONOTIC CORONAVIRUSES

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ПО БЕШЕНСТВУ И ВСЕ ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. ВЛАДИМИР):

- является научным центром Россельхознадзора по вопросам диагностики и контроля бешенства;
- выполняет исследования по определению титра антител к вирусу бешенства для вывоза домашних животных за границу (FAVN), входит в перечень уполномоченных на проведение данных исследований лабораторий Европейского союза, Китая, в том числе Тайваня;
- определяет инфекционную активность вируса бешенства методом титрования в культуре клеток антирабического вакцинного сырья, референтных штаммов и изолятов вируса бешенства при проведении научных исследований;
- проводит исследования на бешенство с использованием следующих методов в соответствии с требованиями ГОСТ ISO/IEC 17025-2019:
 - 1) диагностика бешенства животных в реакции иммунофлуоресценции;
 - 2) выделение вируса бешенства в культуре клеток нейробластомы мыши;
 - 3) обнаружение флуоресцентным методом антибиотиков тетрациклинового ряда в тканях зубов и костей животных для контроля поедаемости оральных антирабических вакцин;
 - 4) определение вируснейтрализующих антител к вирусу бешенства в крови диких плотоядных животных в реакции нейтрализации в культуре клеток ВНК-21 (RFFIT);
 - 5) определение антител к вирусу бешенства в конкурентном варианте твердофазного иммуноферментного анализа («Бешенство-Ат-ИФА»);
 - 6) выявление фрагмента генома вируса бешенства методом совмещенной обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции в режиме реального времени («Бешенство-С-ОТ-ПЦР»);
 - 7) выявление возбудителя губкообразной энцефалопатии КРС, скрепи, хронической изнуряющей болезни оленей и лосей (ИФА);
 - 8) выявление ДНК возбудителя лихорадки Ку (ПЦР);
 - 9) выявление РНК вируса чумы плотоядных (ПЦР);
 - 10) выявление РНК парвовирусов плотоядных (ПЦР);
 - 11) выявление РНК *Jaagsiekte sheep retrovirus* (ПЦР);
 - 12) выявление ДНК возбудителя алеутской болезни норки (ПЦР);
 - 13) выявление РНК вирусов лихорадки Западного Нила и лихорадки долины Рифт (ПЦР);
 - 14) выявление РНК вирусов венозного энцефаломиелита и японского энцефалита лошадей (ПЦР);
 - 15) выявление РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ПЦР);
 - 16) выявление генома вируса артрита-энцефалита коз (ПЦР);
 - 17) определение антител к возбудителю лихорадки Ку (ИФА);
 - 18) определение антител к возбудителю меди-висна, артрита-энцефалита коз (ИФА);
 - 19) определение антител к возбудителю эпидидимита баранов (ИФА);
 - 20) определение антител к *Mycoplasma agalactiae* коз и овец (ИФА);
 - 21) определение антител к возбудителю миксоматоза кроликов (ИФА);
- является разработчиком и производителем средств диагностики бешенства животных:
 - 1) иммуноглобулина антирабического флуоресцирующего диагностического «ФЛУРАБ»;
 - 2) набора по обнаружению антител к вирусу бешенства в конкурентном варианте твердофазного иммуноферментного анализа «Бешенство-Ат-ИФА»;
 - 3) тест-системы для выявления фрагмента генома вируса бешенства методом совмещенной обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «ВНИИЗЖ-Бешенство-С-ОТ-ПЦР»;
- оказывает услуги по проверке квалификации лабораторий, осуществляющих диагностику бешенства, в качестве провайдера межлабораторных сличительных испытаний в соответствии с требованиями ГОСТ ISO/IEC 17043-2013;
- проводит обучение в форме стажировок, вебинаров и курсов повышения квалификации по лабораторной диагностике, эпизоотологии и контролю бешенства животных, а также по трансмиссивным губкообразным энцефалопатиям животных;
- является разработчиком и координатором Комплекса мер по борьбе с бешенством в государствах – участниках СНГ и других мероприятий по контролю бешенства в РФ, а также постоянным участником совещаний в качестве экспертной организации.

Подробную информацию можно получить по тел. 8 (4922) 26-15-12 доб. 23-33;

Елена Владимировна Чернышова,
кандидат ветеринарных наук,
заведующий референтной лабораторией по бешенству и BSE,
chernishova@arriah.ru