

DOI: 10.37925/0039-713X-2025-1-34-37

УДК 579.62:578.347:634.6

Исследование бактериофагочувствительности сероваров сальмонелл у свиней



П.Н. ШАСТИН, кандидат вет. наук, ст. научный сотрудник, e-mail: shastin.pasha@yandex.ru, А.В. ХАБАРОВА, мл. научный сотрудник, e-mail: xabarova.alla97@mail.ru, В.А. САВИНОВ, кандидат биолог. наук, ст. научный сотрудник, e-mail: visik06@mail.ru, Е.Г. ЕЖОВА, научный сотрудник, e-mail: ezhova@micro-ecology.ru, А.И. ЛАИШЕВЦЕВ, кандидат биолог. наук, вед. научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией, e-mail: cvat19@gmail.com, ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.П. Коваленко Российской академии наук»

В данной работе коллектив авторов представляет результаты определения литической активности бактериофагов в отношении изолятов сальмонелл, выделенных рутинными бактериологическими методами с использованием времяпролетной масс-спектрометрии у свиней, отобранных в различных регионах Российской Федерации из секционного и патологоанатомического материала. Выявлена чувствительность 72 сероваров сальмонелл – *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella spp.*, *Salmonella amina*, *Salmonella infantis*, *Salmonella enterica*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella edinburg*, *Salmonella muguga*, *Salmonella hull*, *Salmonella minnesota*, *Salmonella newcort*, *Salmonella diorbel*, *Salmonella lomita*, *Salmonella morotai*, *Salmonella rochdale*, *Salmonella berlin*, *Salmonella meleagridis*, *Salmonella rissen*, *Salmonella fidzroy*, *Salmonella omderman* к бактериофагам ST11, FOP, SL11, SE40, SI3, SL26, 4 микрил, 4ГМ. По результатам исследования установлено, что наиболее высокими литическими свойствами обладают бактериофаги ST11, FOP и SL11.

Ключевые слова: бактериофаги, свиноводство, литическая активность, спот-тест, биобезопасность, фагочувствительность, *Salmonella spp.*, антибиотикорезистентность.

Investigation of bacteriophage sensitivity of salmonella serovars from pigs

P.N. SHASTIN, candidate of veterinary sciences, senior researcher, e-mail: shastin.pasha@yandex.ru, A.V. KHABAROVA, junior researcher, e-mail: xabarova.alla97@mail.ru, V.A. SAVINOV, candidate of biological sciences, senior researcher, e-mail: visik06@mail.ru, E.G. EZHOVA, researcher, e-mail: ezhova@micro-ecology.ru, A.I. LAISHEVTSEV, candidate of biological sciences, leading researcher, acting head of laboratory, e-mail: cvat19@gmail.com, Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Centre VIEV

In this paper, the team of authors presents the results of determining the lytic activity of bacteriophages in relation to salmonella isolates isolated by routine bacteriological methods using time-of-flight mass spectrometry from pigs from various regions of the Russian Federation from sectional and pathoanatomic materials. The sensitivity of 72 strains of salmonella *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella spp.*, *Salmonella amina*, *Salmonella infantis*, *Salmonella enterica*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella edinburgh*, *Salmonella muguga*, *Salmonella hull*, *Salmonella minnesota*, *Salmonella newcort*, *Salmonella diorbel*, *Salmonella lomita*, *Salmonella morotai*, *Salmonella rochdale*, *Salmonella berlin*, *Salmonella meleagridis*, *Salmonella rissen*, *Salmonella fidzroy*, *Salmonella omderman*, to bacteriophages ST11, FOP, SL11, SE40, SI3, SL26, 4 micriils, 4GM. According to the results of the study, the bacteriophages ST11, FOP and SL11 have the highest lytic properties.

Key words: bacteriophages, pig-breeding, lytic activity, spot-test, biosafety, phage sensitivity, *Salmonella spp.*, antibiotic resistance.

■ Введение

Сокращение объемов потребляемых антибиотиков во всем мире активно регулируется нормативными актами, установленными различными государствами. Первой европейской страной, ограничившей при-

менение антибиотиков в аграрном секторе, в 1971 году стала Великобритания [1]. Через 15 лет аналогичный запрет был произведен в Швеции. В последующем Дания в 1996 году запретила использование ряда препаратов в свиноводстве, а через

четыре года добровольно отказалась от применения всех антибиотических стимуляторов роста.

В России реализуется стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности и утвержден Федеральный закон от

30 декабря 2020 года №492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации», в соответствии с которым введен запрет на применение в ветеринарии antimicrobных лекарственных препаратов в нелечебных целях [2].

В качестве полноценной замены антибиотикам в сельскохозяйственной отрасли стоит рассматривать бактериофаги, так как они являются естественными биологическими врагами патогенных бактерий и широко распространены в природе. Это упрощает возможность их получения и сокращает стоимость и сроки работ при обеспечении безопасности для организма животных и человека [3].

Бактериофаги – это вирусы, являющиеся антагонистами бактериальных клеток, обладающие способностью к избирательному инфицированию бактерий, которые принадлежат к одному штамму или антигенно-гомологичным штаммам одного вида или рода.

Антимикробный эффект бактериофагов обусловлен внедрением фагов в бактериальные клетки с последующим размножением и лизисом инфицированных клеток. Бактериофаги, выделяемые во внешнюю среду в результате лизиса бактерии, повторно инфицируют и лизируют другие бактериальные клетки. Лежащие в основе действия природных механизмы взаимодействия фагов и бактерий позволяют прогнозировать бесконечное разнообразие как самих бактериофагов (10^{30} – 10^{32}), так и возможных способов их применения [4].

Механизм действия фагов заключается в проникновении через эпителиальные барьеры слизистых оболочек с помощью рецептор-зависимого транспорта, активно осуществляемого бокаловидными клетками эпителия кишечника и М-клетками иммунной системы.

Перорально введенный бактериофаг быстро достигает очагов локализации инфекции и уже через час поступает в общий кровоток, а также адсорбируется тканями, оседая в первую очередь в лимфатических узлах, печени и селезенке, через 1–1,5 часа фиксируется в бронхолегочном экссудате, а через 2 часа – в моче [5]. Гематозенцефалический барьер не является преградой для проникновения фагов в центральную нервную систему.

Основными направлениями для конструирования и внедрения препаратов на основе бактериофагов в ветеринарии и перерабатывающей отрасли являются [6]:

- лечебно-профилактическое использование бактериофагов в борьбе с бактериальными инфекциями;
- бактериофаг-опосредованный биоконтроль эпизоотической ситуации, подразумевающий комплекс мер по уничтожению бактерий, поражающих продуктивных животных на прижизненном этапе (то есть до этапа попадания их на перерабатывающие предприятия);
- фаговый биопроектирование, используемый для деконтаминации пищевых продуктов растительного и животного происхождения (например, от возбудителей токсикоинфекций), а также для продления сроков их годности непосредственно на перерабатывающем предприятии;
- биодезинфекция объектов ветеринарного надзора, подразумевающая обработку помещения, инвентаря, подстилки, навоза и т.д.

■ Лечебно-профилактические бактериофаги в ветеринарии

Первые упоминания о фаготерапии в ветеринарии связаны с именем Феликса Д'Эрелль, который при вспышке сальмонеллеза кур во Франции в 1919 году успешно апробировал бактериофаги с высокой литической активностью к *Salmonella gallinarum* [7, 8]. В 1983 году Williams Smith et al. обнаружили профилактическую и терапевтическую эффективность бактериофагов, специфичных к энтеротоксигенному штамму *E.coli* O9:K30.99.57, при диарее телят, поросят и ягнят [9]. В 2002 году были проведены эксперименты по лечению бактериемии, вызванной ванкомицин-устойчивым штаммом *Enterococcus faecium* [10].

Специфические и литически высокоактивные бактериофаги успешно апробированы в борьбе с сальмонеллезом голубей – они позволяют санировать птицу от сальмонеллоносительства [11, 12].

Сотрудниками ВГНКИ в 1995 году разработан фаговый препарат, обладающий высокой лечебной и профилактической активностью по отношению к *Salmonella enteritidis* и *Salmonella gallinarum-pullorum* [13]. Специалистами ЦБО «Микроэкологии» отмечены определен-

ные решения по использованию бактериофагов для борьбы и профилактики с сальмонеллезом на серопозитивных по *Salmonella spp.* предприятиях, где за счет комплексного подхода на опытных площадках свиноводческих и птицеводческих агрохолдингов удается прекратить выделение сальмонелл [14, 16].

Согласно вышеприведенной информации, бактериофаги могут эффективно применяться в различных сферах сельскохозяйственной деятельности. По результатам данных, полученных от Роспотребнадзора, за первые 10 месяцев 2023 года зафиксировано увеличение случаев заболеваемости сальмонеллезной инфекцией в Российской Федерации на 29% по сравнению с предшествующим годом. Изоляты сальмонелл занимают одно из ведущих мест среди микроорганизмов, выделяемых у животных и птицы [16].

Целью исследования является оценка влияния бактериофагов на серовары сальмонелл, полученных у свиней путем постановки спот-теста.

■ Материалы и методы исследования

Исследование выполнено в период с 2022 по 2024 год на базе лаборатории диагностики и контроля антибиотикорезистентности возбудителей наиболее клинически значимых инфекционных болезней животных ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН в рамках государственного проекта FGUG-2025-0003 Министерства науки и высшего образования РФ. Принцип проведения исследования заключался в следующих этапах:

- отбор патматериала для проведения бактериологического исследования;
- выделение культур этиологически значимых микроорганизмов рутинными бактериологическими методами;
- проведение лабораторных экспериментов;
- анализ и интерпретация результатов эксперимента.

В работе были использованы следующие серовары сальмонелл ($n=72$): *Salmonella typhimurium* ($n=30$), *Salmonella choleraesuis* ($n=9$), *Salmonella spp.* ($n=6$), *Salmonella amina* ($n=3$), *Salmonella infantis* ($n=3$), *Salmonella enterica* ($n=3$), *Salmonella enteritidis* ($n=2$), *Salmonella edinburg*

(n=2), *Salmonella muguga* (n=2), *Salmonella hull* (n=1), *Salmonella minnesota* (n=1), *Salmonella newcort* (n=1), *Salmonella diorbel* (n=1), *Salmonella lomita* (n=1), *Salmonella morotai* (n=1), *Salmonella rochdale* (n=1), *Salmonella berlin* (n=1), *Salmonella meleagridis* (1), *Salmonella rissen* (n=1), *Salmonella fidzroy* (n=1), *Salmonella omderman* (n=1), полученные из патологоанатомического и секционного материала, отобранного в Тюменской, Новосибирской, Пензенской, Кемеровской, Курской, Белгородской, Липецкой, Воронежской, Тамбовской областях, Республике Бурятия.

В качестве эталонных штаммов использовали *Salmonella enteritidis* (ГНУ ВНИИВВиМ Россельхознадзора) и *Salmonella typhimurium* (Bio Merieux, Франция). Штаммы бактериофагов (ST11, FOP, SL11, SE40, SI3, SL26, 4 микрил, 4ГМ) получены из Всероссийской коллекции вакцинных и патогенных штаммов ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Литические свойства бактериофагов определяли спот-тестом. Концентрация фаговых частиц каждого бактериофага – $10^9 \times 10^{10}$ БОЕ/мл.

Для выполнения исследования были использованы следующие питательные среды, приготовленные в соответствии с инструкциями: 0,9%–ный изотонический раствор NaCl (Россия), сердечно-мозговой бульон (HiMedia, Индия), агар Мюллера-Хинтона (HiMedia), пептонная вода (буферированная) по ISO 6579 (Peptone water buffered), питательная среда для выделения и дифференциации энтеробактерий сухая (XLD-агар, ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Полученные колонии сальмонелл идентифицировали методом матрично-активированной лазерной десорб-

1. Маилян Э.С. Проблема использования антибиотиков в животноводстве и пути контроля микробной антибиотикорезистентности. БИО, 2021. №12(255). С. 4–16. EDN PRGLPY.

2. Федеральный закон от 30.12.2020 №492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации». 16 с.

3. Smirnov D.D. Perspectives of the use of bacteriophages in agriculture, food and processing industries/ D.D. Smirnov, A.V. Kapustin, E.A. Yakimova et al./III International Scientific

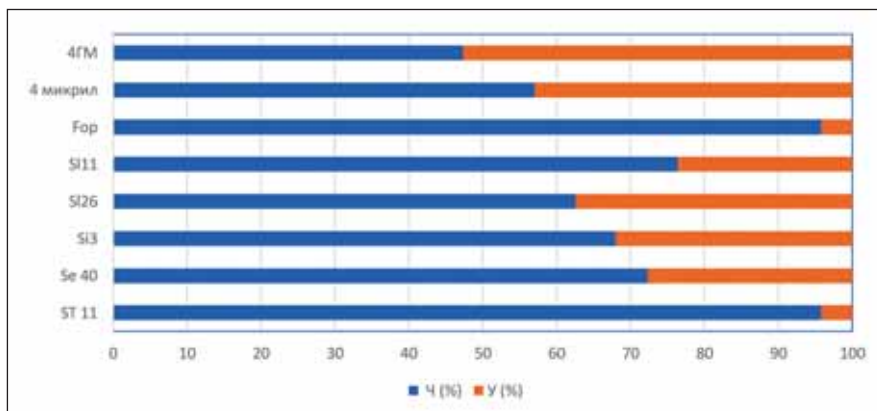


Рис. Структура литической активности бактериофагов в отношении сероваров *Salmonella* spp. (n=72; %)

ции (ионизации) с времяпролетной масс-спектрометрией MALDI-ToF MS (Bruker Daltonik GmbH, Германия).

■ Результаты исследования

В результате полученных данных установлено, что наибольшую литическую активность к сероварам сальмонелл показали бактериофаги ST11 и FOP – по 95,8% каждый и устойчивы из них по 4,2% соответственно. В свою очередь, чувствительность к бактериофагу SL11 составила 76,4% из 72 сероваров сальмонелл, нечувствительны – 23,6%. Бактериофаг SE40 проявил литическую активность на уровне 72,3%, устойчивых изолятов среди них оказалось 27,7%. Бактериофаг SI3 подверг элиминации 68% исследуемых сероваров, при этом устойчивых среди них было 32%. Бактериофаги SL26, 4 микрил, 4ГМ лизировали 62,5%, 57%, 47,3% сероваров, доля устойчивых изолятов – 37,5%, 43%, 52,7% соответственно.

Для наглядности полученные результаты представлены на рисунке.

■ Заключение

Результаты исследования наглядно демонстрируют эффективную элиминацию различных сероваров

Salmonella spp. бактериофагами, причем некоторые из них обладают литической активностью внутри нескольких сероваров сальмонелл. Наибольшую литическую активность показали бактериофаги ST11, FOP и SL11.

Препараты, содержащие бактериофаги, могут применяться не только как эффективный инструмент лечения и профилактики бактериальных болезней свиней, но и как неотъемлемый элемент базовых программ биозащиты промышленного предприятия. Реализация такого комплексного подхода позволит обеспечить рост производства на основе натуральных и органических продуктов, борьбу с антибиотикорезистентностью и ограничение использования антибиотиков, повышенную безопасность на всех этапах промышленного производства свинины и продуктов ее переработки.

Исследования проведены при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Регистрационный номер темы государственного задания FGUG-2025-0003

Литература

Conference Agritech-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Institute of Physics and IOP Publishing Limited, 2020. P. 72058. DOI: 10.1088/1755-1315/548/7/072058. EDN BYOUJM.

4. Захарченко С.М. Бактериофаги: современный аспект. Медицинский совет, 2013. №10. С. 72–74.

5. Асланов Б.И. Эффективные антибактериальные средства в условиях глобальной устойчивости к антибиотикам. Медицинский совет, 2016. Спецвыпуск. С. 3–7.

6. Бактериофаги микроорганизмов, значимых для животных, растений и человека//Результаты научных исследований сотрудников кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии имени П.А. Столыпина: Монография/Под ред. Д.А. Васильева, С.Н. Золотухина. Ульяновск: УГСХА имени П.А. Столыпина, 2013. С. 10–14.

7. d’Herelle F. Le bacteriophage: Son role dans l’immunitu. Masson &

Cie, Paris, 1921. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. Paris: Compt. Rend. Acad. Sci. 165:373–375.

8. d'Herelle F. The bacteriophage an its behavior. The Williams & Wilkins Company. Baltimore: Comptes Rendus Acad. Sci., 1926. 162:570–573.

9. Smith H.W. Effectiveness of phages in treating experimental Escherichia coli diarrhea in calves, piglets and lambs/ H.W. Smith, M.B. Huggins. J. Gen. Microbiol., 1983. Vol. 5. №129. P. 2659–2675.

10. Biswas B. Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant Enterococcus faecium/ B. Biswas et al. Infect. Immun., 2002. Vol. 70. №1. P. 204–210.

11. Чиркова И.В. Биологические свойства бактериофагов к Salmonella typhimurium и их применение в бо-

рьбе с сальмонеллезом голубей: Автореферат диссертации кандидата биолог. наук. М., 2008. 18 с.

12. Пименов Н.В. Разработка средств и совершенствование методов лечения и профилактики сальмонеллеза птиц: Автореферат диссертации доктора биолог. наук. М., 2012. 49 с.

13. Ленев С.В. Патент №2026082 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/112, С12Н 1/20, С12Н 7/00. Препарат против сальмонеллеза кур и способ лечения и профилактики сальмонеллеза кур №5068166/13. Заявлено 24.07.1992. Опубликовано 09.01.1995/С.В. Ленев, Ю.А. Малахов, Э.А. Светоч, Б.Ю. Шустер. EDN KDENOX.

14. Лаишевцев А.И. Клиническое исследование комбинированного коли-сальмонеллезного бактериофага на индейках/А. И. Лаишевцев, П.Н. Шастин, Э.Р. Зулькарнеев и др.

Ветеринария и кормление, 2022. №6. С. 51–54. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2022-6-13. EDN ADYCZQ.

15. Лаишевцев А.И. Результаты клинического испытания средства на основе коли-сальмонеллезных бактериофагов в промышленном птицеводстве/А. И. Лаишевцев, Д.Д. Смирнов, Е.Г. Ежова. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2023. №3(63). С. 113–119. DOI: 10.18286/1816-4501-2023-3-113-119. EDN KXGVGH.

16. Юшкевич Е.А. Алгоритм индивидуального подбора бактериофагов для эффективной эрадикации сальмонелл как возбудителей зоонозных инфекций/Е.А. Юшкевич, В.А. Калашников, С.О. Шаповалов и др. Эпидемиология и инфекционные болезни, 2024. Т. 29, №1. С. 35–49. DOI: 10.51620/EIB-2024-29-1-43-57. EDN OFZHNI.