

МРНТИ 68.41.53

УДК 579.62:616.9

<https://doi.org/10.52269/SEPT2631025>

ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ ШТАММА *BRUCELLA MELITENSIS* 16M В СЕЛЕЗЕНКЕ ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

Алпысбаева С.Е.* – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Кордайский р-н, Республика Казахстан.

Сармыкова М.К. – научный сотрудник лаборатории «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Кордайский р-н, Республика Казахстан.

Әбдімұхтар А.Р. – научный сотрудник лаборатории «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Кордайский р-н, Республика Казахстан.

Еспембетов Б.А. – автор-корреспондент, заведующий лабораторией «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Кордайский р-н, Республика Казахстан.

Бруцеллез остается одной из наиболее значимых зоонозных инфекций в Республике Казахстан, что определяет необходимость стандартизированных экспериментальных моделей для доклинической оценки средств специфической профилактики. Целью исследования явилась оценка воспроизводимости бактериологического метода количественного определения бактериальной нагрузки селезенки лабораторных мышей при экспериментальном заражении *Brucella melitensis*. Эксперимент проведен в октябре 2025 года в лаборатории микробиологии ТОО «НИИПББ» на белых лабораторных мышах-самках ($n = 6$) массой 18-20 г, инфицированных внутрибрюшинно суспензией *B. melitensis* 16M в дозе 2×10^5 КОЕ/0,1 мл. Контрольную группу ($n = 3$) составили интактные животные, которым вводили стерильный физиологический раствор. Бактериальную нагрузку определяли на 15-е сутки после заражения методом количественного посева гомогената селезенки с последующим подсчетом КОЕ и пересчетом на КОЕ/г ткани. Дифференциацию выделенных изолятов от вакцинного штамма Rev-1 проводили по характеру роста на средах со стрептомицином и пенициллином. Во всех случаях установлена колонизация органа возбудителем. Средняя бактериальная нагрузка составила $1,92 \times 10^5 \pm 0,29 \times 10^5$ КОЕ/мл при индивидуальных значениях от $1,5 \times 10^5$ до $2,3 \times 10^5$ КОЕ/мл (коэффициент вариации 14,9 %); у животных контрольной группы рост микроорганизмов отсутствовал. Морфологические и культуральные характеристики выделенных колоний соответствовали типичным признакам *B. melitensis* 16M. Полученные результаты подтверждают воспроизводимость применяемого бактериологического метода и возможность его использования в доклинических исследованиях.

Ключевые слова: *Brucella melitensis*, белые лабораторные мыши, селезенка, бактериальная нагрузка, экспериментальная модель, КОЕ, Rev-1.

ЗЕРТХАНАЛЫҚ ТЫШҚАНДАРДЫҢ КӨКБАУЫРЫНДА *BRUCELLA MELITENSIS* 16M ШТАМЫНЫҢ БАКТЕРИАЛДЫҚ ЖҮКТЕМЕСІН ЗЕРТТЕУ

Алпысбаева С.Е.* – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Микробиология» зертханасының аға ғылыми қызметкері, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Қордай ауданы, Қазақстан Республикасы.

Сармыкова М.К. – «Микробиология» зертханасының ғылыми қызметкері, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Гвардейский кенті, Қазақстан Республикасы.

Әбдімұхтар А.Р. – «Микробиология» зертханасының ғылыми қызметкері, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Қордай ауданы, Қазақстан Республикасы.

Еспембетов Б.А. – корреспондент-автор, «Микробиология» зертханасының меңгерушісі, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Қордай ауданы, Қазақстан Республикасы.

Бруцеллез Қазақстан Республикасындағы аса маңызды зооноздық инфекциялардың бірі болып қала береді, бұл арнайы профилактика құралдарын доклиникалық бағалауға арналған стандартталған эксперименттік модельдердің қажеттілігін айқындайды. Зерттеудің мақсаты – зертханалық тышқандарды *Brucella melitensis*-пен эксперименттік жұқтыру кезінде көкбауырдағы бактериалдық жүктемені сандық анықтауға арналған бактериологиялық әдістің қайта өндірілілігін

бағалау болып табылады. Эксперимент 2025 жылдың қазан айында «БҚПҒЗИ» ЖШС микробиология зертханасында салмағы 18-20 г ақ зертханалық аналық тышқандарда ($n = 6$) жүргізілді; жануарлар *B. melitensis* 16М суспензиясымен 2×10^5 КТБ/0,1 мл дозада іш қуысына жұқтырылды. Бақылау тобын ($n = 3$) стерильді физиологиялық ерітінді енгізілген иттактілі жануарлар құрады. Бактериалдық жүктеме жұқтырудан кейінгі 15-тәулікте көкбауыр гомогенатын сандық себу әдісімен, КТБ санау және тіннің бір грамына қайта есептеу арқылы анықталды. Бөлініп алынған изоляттарды Rev-1 вакциналық штаммынан ажырату стрептомицин мен пенициллин қосылған қоректік орталардағы өсу сипаты бойынша жүргізілді. Барлық жағдайларда органның қоздырғышпен колонизациясы тіркелді. Орташа бактериалдық жүктеме $1,92 \times 10^5 \pm 0,29 \times 10^5$ КТБ/мл құрады, жеке көрсеткіштер $1,5 \times 10^5$ -тен $2,3 \times 10^5$ КТБ/мл аралығында болды (вариация коэффициенті 14,9 %); бақылау тобындағы жануарларда микроорганизмдердің өсуі байқалмады. Бөлінген колониялардың морфологиялық және дақылдық сипаттамалары *B. melitensis* 16М-ге тән белгілерге сәйкес келді. Алынған нәтижелер қолданылған бактериологиялық әдістің қайта өндірулігі және оны доклиналық зерттеулерде қолдану мүмкіндігін растайды.

Түйінді сөздер: *Brucella melitensis*, ақ зертханалық тышқандар, көкбауыр, бактериалдық жүктеме, эксперименттік модель, КТБ, Rev-1.

STUDY OF THE BACTERIAL LOAD OF *BRUCELLA MELITENSIS* 16M STRAIN IN THE SPLEEN OF LABORATORY MICE

Alpysbayeva S.Ye.* – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Korday district, Republic of Kazakhstan.

Sarmykova M.K. – Researcher, Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Korday district, Republic of Kazakhstan.

Abdimukhtar A.R. – Researcher, Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Korday district, Republic of Kazakhstan.

Yespembetov B.A. – Corresponding Author, Head of the Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Korday district, Republic of Kazakhstan.

Brucellosis remains one of the most significant zoonotic infections in the Republic of Kazakhstan, which determines the need for standardized experimental models for the preclinical evaluation of specific prophylactic agents. The aim of this study was to assess the reproducibility of a bacteriological method for the quantitative determination of bacterial load in the spleen of laboratory mice experimentally infected with *Brucella melitensis*. The experiment was carried out in October 2025 at the Laboratory of Microbiology of the Research Institute for Biological Safety Problems on female white laboratory mice ($n = 6$) weighing 18-20 g, infected intraperitoneally with a suspension of *B. melitensis* 16M at a dose of 2×10^5 CFU/0.1 ml. The control group ($n = 3$) consisted of intact animals injected with sterile saline. Bacterial load was determined on day 15 post-infection by quantitative culture of spleen homogenate with subsequent CFU counting and conversion to CFU per gram of tissue. Differentiation of the isolates from the vaccine strain Rev-1 was performed on the basis of growth on media containing streptomycin and penicillin. Colonization of the organ by the pathogen was established in all cases. The mean bacterial load was $1.92 \times 10^5 \pm 0.29 \times 10^5$ CFU/ml, with individual values ranging from 1.5×10^5 to 2.3×10^5 CFU/ml (coefficient of variation 14.9 %); no microbial growth was detected in the control group. The morphological and cultural characteristics of the isolated colonies corresponded to the typical features of *B. melitensis* 16M. The obtained results confirm the reproducibility of the applied bacteriological method and the possibility of its use in preclinical studies.

Key words: *Brucella melitensis*, white laboratory mice, spleen, bacterial load, experimental model, CFU, Rev-1.

Введение. Бруцеллез относится к числу социально и ветеринарно значимых зоонозных инфекций, сохраняющих актуальность для животноводства и общественного здравоохранения. Заболевание сопровождается репродуктивными нарушениями у сельскохозяйственных животных и приводит к экономическим потерям, связанным со снижением продуктивности, абортами и проведением противоэпизоотических мероприятий [5, с. 105-107]. Одновременно представители рода *Brucella* способны вызывать заболевание у человека, что определяет выраженное зоонозное значение инфекции [1, с. 775-776; 2, с. 393-394; 6, с. 1076].

Особое эпидемиологическое значение имеет *Brucella melitensis*, естественными хозяевами которой преимущественно являются овцы и козы. Данный вид рассматривается как наиболее вирулентный представитель рода *Brucella* и является одним из основных возбудителей бруцеллеза человека [3, с. 283-285]. Заражение людей связано прежде всего с контактом с инфицированными животными и их биологическими материалами, а также с употреблением непастеризованного молока и молочных продуктов. Козы являются одним из основных источников *B. melitensis* для человека [6, с. 1083; 2, с. 393-394]. Расширение круга резервуарных хозяев и появление новых путей передачи возбудителя дополнительно осложняют эпидемиологический контроль инфекции [4, с. S8-S10].

Проблема бруцеллеза сохраняет актуальность и для Республики Казахстан. Анализ эпизоотической и эпидемиологической ситуации за 2022-2024 гг. свидетельствует о продолжающейся регистрации заболевания среди населения и сельскохозяйственных животных. Наибольшее эпидемиологическое неблагополучие в рассматриваемый период отмечалось в южных регионах страны, включая Алматинскую, Жамбылскую, Жетысускую, Кызылординскую и Туркестанскую области, а также г. Шымкент. Установленная взаимосвязь между зараженностью сельскохозяйственных животных и заболеваемостью населения подтверждает необходимость комплексного ветеринарно-санитарного контроля и совершенствования средств специфической профилактики бруцеллеза [15, с. 30-31].

Важной биологической особенностью бактерий рода *Brucella* является их способность к внутриклеточному выживанию и размножению. После проникновения в клетки хозяина вирулентные гладкие штаммы способны сохраняться внутри фагоцитирующих клеток, модифицировать внутриклеточное окружение и препятствовать нормальному созреванию фагосом [7, с. 213-216]. Эти механизмы создают условия для продолжительной персистенции возбудителя в организме и имеют существенное значение в патогенезе бруцеллезной инфекции [6, с. 1079-1080].

Для изучения патогенеза бруцеллеза и сравнительной оценки эффективности профилактических средств широко применяются экспериментальные модели на лабораторных мышах. Наиболее часто в таких исследованиях используются мыши линий BALB/c и C57BL. Одними из основных количественных критериев экспериментальной инфекции являются показатели бактериальной нагрузки в селезенке и печени. Определение количества жизнеспособных бактерий в этих органах позволяет оценивать степень колонизации организма возбудителем и динамику инфекционного процесса [6, с. 1086; 10, с. 3-5].

Особое значение для воспроизведения экспериментального бруцеллеза имеет вирулентный штамм *B. melitensis* 16M. В экспериментальных исследованиях на мышах BALB/c показана его способность к устойчивой колонизации селезенки после внутрибрюшинного заражения. При исследовании динамики инфекции жизнеспособные клетки штамма 16M продолжительное время выявлялись в селезенке экспериментально зараженных животных, а количественный бактериологический метод использовался для определения уровня колонизации органа [16, с. 2188-2190].

Селезенка является одним из наиболее информативных органов для количественной оценки экспериментальной бруцеллезной инфекции. Бактериальная нагрузка селезенки широко используется при исследовании патогенеза *Brucella* и при оценке экспериментальных вакцинных кандидатов. Снижение количества жизнеспособных бруцелл в органах вакцинированных животных после контрольного заражения позволяет количественно характеризовать защитный эффект исследуемого препарата [9, с. 91-93]. Вместе с тем при интерпретации результатов следует учитывать ограничения мышиной модели и различия между лабораторными животными и естественными хозяевами возбудителя [6, с. 1085-1086; 16, с. 2190].

Важным направлением контроля бруцеллеза остается специфическая профилактика инфекции с использованием живых вакцинных штаммов *Brucella*. В ранее проведенных нами исследованиях была изучена эффективность конъюнктивной живой сухой вакцины против бруцеллеза овец и коз на основе штамма *Brucella melitensis* Rev-1, включая результаты комиссионных испытаний препарата [17, с. 307–310]. В последующей работе нами была проведена оценка температурной стабильности лиофилизированной вакцины на основе штамма *B. melitensis* Rev-1, что позволило дополнительно охарактеризовать свойства вакцинного препарата при различных условиях хранения [18, с. 238–241]. Дальнейшая разработка и оценка средств специфической профилактики бруцеллеза требуют применения воспроизводимой экспериментальной модели, позволяющей количественно оценивать уровень инфицирования органов лабораторных животных и объективно определять протективную эффективность исследуемых вакцинных препаратов.

Таким образом, определение бактериальной нагрузки в селезенке лабораторных мышей после экспериментального заражения вирулентным штаммом *B. melitensis* 16M представляет собой объективный количественный подход к характеристике экспериментальной инфекции. Получение воспроизводимых значений бактериальной нагрузки необходимо для стандартизации модели и создает основу для ее последующего использования при доклинической оценке эффективности средств специфической профилактики бруцеллеза.

Цель исследования – определить бактериальную нагрузку штамма *Brucella melitensis* 16M в селезенке инфицированных лабораторных мышей и оценить воспроизводимость используемой экспериментальной модели.

Задачи исследования:

1. Провести внутрибрюшинное заражение мышей штаммом *Brucella melitensis* 16M.
2. Выполнить асептическое извлечение селезенки и подготовку гомогената.
3. Определить бактериальную нагрузку методом последовательных разведений и подсчета КОЕ.
4. Провести сравнительную идентификацию культур с контрольным вакцинным штаммом Rev-1.
5. Оценить воспроизводимость экспериментальной модели.

Материалы и методы. Эксперимент проведен в октябре 2025 года в лаборатории микробиологии ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» (пгт. Гвардейский, Кордайский район, Жамбылская область, Республика Казахстан).

Лабораторные животные. Объектом исследования служили белые аутбредные (беспородные) мыши-самки в возрасте 6-8 недель, массой 18-20 г ($n = 6$), полученные из ИП «БЕРЕКЕ». Животных содержали в условиях вивария при температуре 20-24 °С, относительной влажности 45-65 % и 12-часовом цикле освещения при свободном доступе к воде и стандартному гранулированному корму; перед началом эксперимента проводили карантин и адаптацию продолжительностью 7 суток. Все манипуляции выполняли в соответствии с международными принципами проведения биомедицинских исследований с использованием животных [12]; протокол исследования одобрен комиссией по биоэтике ТОО «НИИПББ» (протокол № 1 от 14 июля 2023 г).

В качестве контрольной группы использовали интактных животных ($n = 3$), которым внутрибрюшинно вводили 0,1 мл стерильного физиологического раствора.

Заражение. Животных опытной группы инфицировали внутрибрюшинным введением 0,1 мл суспензии, содержащей 2×10^5 КОЕ вирулентного штамма *Brucella melitensis* 16М (коллекционный № 841), согласно рекомендациям ВОАН (OIE) [11, с. 48]. Фактическую инфицирующую дозу подтверждали ретроспективным количественным высевом рабочей суспензии.

Отбор материала. На 15-е сутки после заражения животных выводили из эксперимента методом смещения шейных позвонков в соответствии с рекомендациями AVMA [13]. Селезенки извлекали асептически, освобождали от жировой ткани, взвешивали на аналитических весах с точностью 0,001 г и гомогенизировали в стерильном физиологическом растворе (pH $6,8 \pm 0,2$) в соотношении 1 : 9 (масса ткани : объем раствора).

Количественный посев. Из гомогената готовили последовательные десятикратные разведения (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). По 0,2 мл каждого разведения высевали на Brucella Agar Base [Liofilchem® S.r.l. Italy, кат. №062823503] и инкубировали при $37 \pm 0,5$ °С в течение 5 суток [11, с. 48]. Колонии *B. melitensis* подсчитывали на чашках, содержащих от 30 до 300 колоний, и рассчитывали бактериальную нагрузку по формуле:

$$\text{КОЕ/мл} = (N \times D) / V,$$

где N – среднее число колоний на чашке; D – коэффициент разведения; V – объем высеваемой суспензии, мл (0,2).

С учетом того, что гомогенат готовили в соотношении 1 : 9, пересчет на единицу массы органа выполняли по формуле $\text{КОЕ/г} = \text{КОЕ/мл} \times 10$, а общее содержание возбудителя в органе рассчитывали как произведение бактериальной нагрузки на единицу массы и массы селезенки с последующим логарифмированием ($\lg$ КОЕ/селезенку). Учет колоний и интерпретацию результатов проводили в соответствии с общими требованиями к микробиологическим исследованиям [14].

Идентификация. Для дифференциальной идентификации выделенных культур *Brucella melitensis* использовали сравнительный анализ с вакцинным штаммом *B. melitensis* Rev-1. Оценивали характер роста на питательных средах, содержащих стрептомицин (2,5 мкг/мл) и пенициллин (5 МЕ/мл), применяемых для дифференциации штаммов рода *Brucella* [11, с. 48], а также морфологические и культуральные свойства колоний.

Статистическая обработка. Результаты обрабатывали методами описательной статистики с расчетом среднего арифметического, выборочного стандартного отклонения ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) и коэффициента вариации (CV, %) в программе Microsoft Excel 2019.

Результаты

Посев гомогенатов селезенки на Brucella Agar Base выявил рост колоний с морфологическими признаками, характерными для *Brucella melitensis* (гладкие, мелкие, полупрозрачные, с ровными краями). Количественные показатели бактериальной нагрузки представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Бактериальная нагрузка *Brucella melitensis* 16М в селезенке инфицированных мышей ($n = 6$)

№	Масса селезенки, г	Бактериальная нагрузка, КОЕ/мл гомогената	Бактериальная нагрузка, КОЕ/г ткани	$\lg$ КОЕ/селезенку
1	0,11	$1,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$	5,22
2	0,13	$1,7 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$	5,34
3	0,14	$2,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^6$	5,45
4	0,12	$1,9 \times 10^5$	$1,9 \times 10^6$	5,36
5	0,11	$2,1 \times 10^5$	$2,1 \times 10^6$	5,36
6	0,12	$2,3 \times 10^5$	$2,3 \times 10^6$	5,44
Mean $\pm$ SD	$0,12 \pm 0,01$	$1,92 \times 10^5 \pm 0,29 \times 10^5$	$1,92 \times 10^6 \pm 0,29 \times 10^6$	$5,36 \pm 0,08$

Анализ данных показал, что бактериальная нагрузка в селезенке варьировала в пределах от $1,5 \times 10^5$ до $2,3 \times 10^5$ КОЕ/мл гомогената при среднем значении $1,92 \times 10^5 \pm 0,29 \times 10^5$ КОЕ/мл. При пересчете на массу ткани средний уровень составил $1,92 \times 10^6 \pm 0,29 \times 10^6$ КОЕ/г, что в пересчете на орган соответствует $5,36 \pm 0,08 \lg$ КОЕ/селезенку.

Отмечена индивидуальная вариабельность показателей: максимальное значение зарегистрировано у животного № 6, минимальное – у животного № 1. Коэффициент вариации бактериальной нагрузки составил 14,9 %, что свидетельствует о низкой межиндивидуальной изменчивости и стабильности используемой модели заражения.

При бактериологическом исследовании селезенки у животных контрольной группы ($n = 3$) роста микроорганизмов не выявлено (0 КОЕ), что подтверждает корректность постановки эксперимента и отсутствие контаминации.

Для дополнительной характеристики выделенных изолятов проведен контрольный пересев, в ходе которого установлено сохранение типичных культуральных свойств: отмечался рост на стандартных питательных средах и на среде с пенициллином при отсутствии роста на стрептомицинсодержащей среде, что соответствует характеристикам референс-штамма *B. melitensis* 16M.

Сравнительный анализ с вакцинным штаммом Rev-1 показал отсутствие совпадения по ростовым характеристикам на селективной среде со стрептомицином, что исключает принадлежность выделенных изолятов к вакцинному штамму.

Для наглядной оценки вариабельности бактериальной нагрузки между животными результаты представлены графически (рисунок 1).

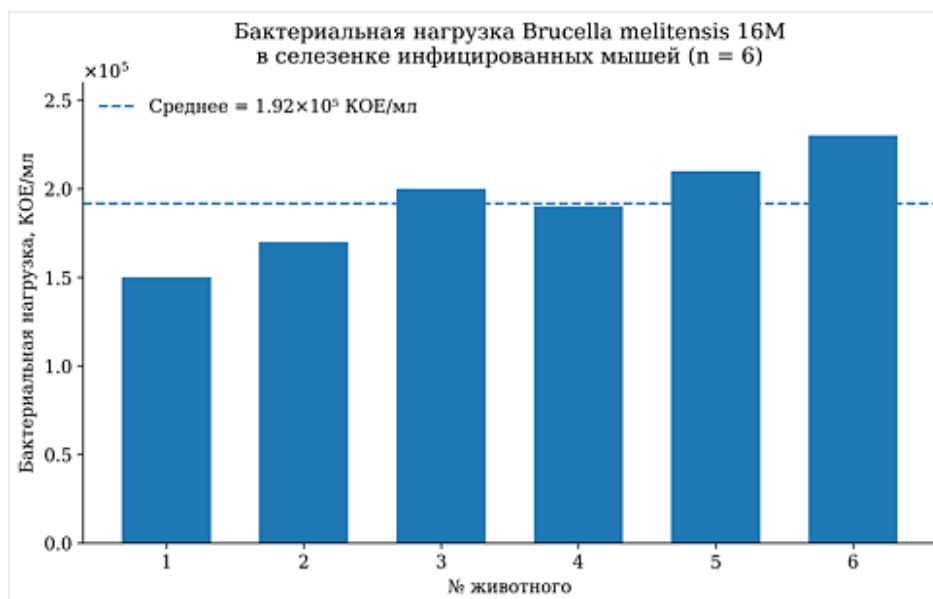


Рисунок 1 – Индивидуальные значения бактериальной нагрузки *Brucella melitensis* 16M в селезенке инфицированных мышей ($n = 6$)

График иллюстрирует распределение индивидуальных значений бактериальной нагрузки у инфицированных животных. Отмечается вариабельность показателей при сохранении общей тенденции к стабильной колонизации селезенки. Горизонтальная линия отражает средний уровень бактериальной нагрузки.

Обсуждение. Полученные результаты показали, что при внутрибрюшинном заражении мышей штаммом *Brucella melitensis* 16M формируется стабильная колонизация селезенки, сопровождающаяся выраженной бактериальной нагрузкой на уровне 10^5 КОЕ/мл гомогената (10^6 КОЕ/г ткани). Данные изменения подтверждают высокую тропность возбудителя к органам ретикулоэндотелиальной системы, в частности к селезенке, что согласуется с ранее опубликованными исследованиями [6, с. 1085-1086; 8, с. 3-5; 10, с. 5-7].

Селезенка рассматривается как один из ключевых органов-мишеней при бруцеллезной инфекции, поскольку в ней происходит активное взаимодействие патогена с макрофагами и клетками врожденного иммунитета, что обеспечивает внутриклеточную персистенцию бактерий [7, с. 213-216; 9, с. 91-93]. Именно этим объясняется устойчивое накопление *Brucella* в данном органе и сохранение высокого уровня бактериальной нагрузки на 15-е сутки после заражения.

Сравнение полученных данных с литературными источниками показывает, что наблюдаемый уровень колонизации (10^5 - 10^6 КОЕ) соответствует описанным значениям для экспериментальной модели мышинного бруцеллеза при использовании штамма *B. melitensis* 16M. Так, в ряде исследований отмечается формирование аналогичного диапазона бактериальной нагрузки в селезенке в сроки от 14 до 21 суток после инфицирования, что подтверждает воспроизводимость используемой модели [6, с. 1086; 8, с. 3-5; 16, с. 2189-2190].

Дополнительным подтверждением корректности выделения возбудителя служат результаты дифференциальной идентификации, включающие сравнение с вакцинным штаммом Rev-1 и анализ

антибиотикочувствительности. Полученные изоляты не соответствовали характеристикам Rev-1, что исключает вероятность их принадлежности к вакцинному штамму и подтверждает наличие вирулентного варианта *B. melitensis*.

Следует отметить, что использование референс-штамма Rev-1 в качестве контрольного позволяет повысить достоверность идентификации, поскольку данный штамм широко применяется как эталонный вакцинный вариант и отличается стабильными фенотипическими характеристиками [11, с. 48; 17, с. 307–310].

Небольшой объем выборки ($n = 6$) является ограничением данного исследования, однако он соответствует пилотному характеру работы, направленной на оценку воспроизводимости экспериментальной модели и первичное определение уровня бактериальной нагрузки. Несмотря на это, полученные результаты демонстрируют низкую вариабельность показателей ($CV = 14,9\%$), что свидетельствует о стабильности модели заражения. Дополнительным ограничением является использование единственной контрольной точки (15-е сутки), не позволяющее охарактеризовать динамику инфекционного процесса.

В целом совокупность полученных данных подтверждает пригодность использованной экспериментальной системы для изучения бруцеллезной инфекции и может служить основой для дальнейших доклинических исследований, включая оценку иммуногенных и протективных свойств разрабатываемых вакцинных препаратов.

Заключение

1. В результате внутрибрюшинного заражения лабораторных мышей штаммом *Brucella melitensis* 16M достигнута стабильная колонизация селезенки у всех экспериментальных животных.

2. Проведена асептическая подготовка гомогенатов селезенки, обеспечившая получение воспроизводимых результатов бактериологического исследования.

3. Установлено, что бактериальная нагрузка в селезенке инфицированных животных варьирует в пределах от $1,5 \times 10^5$ до $2,3 \times 10^5$ КОЕ/мл гомогената при среднем значении $1,92 \times 10^5 \pm 0,29 \times 10^5$ КОЕ/мл ($1,92 \times 10^6 \pm 0,29 \times 10^6$ КОЕ/г ткани; $5,36 \pm 0,08$ lg КОЕ/селезенку).

4. На основании культуральных свойств и анализа антибиотикочувствительности установлено, что выделенные изоляты соответствуют вирулентному штамму *Brucella melitensis* 16M и не относятся к вакцинному штамму Rev-1.

5. Полученные результаты подтверждают воспроизводимость экспериментальной модели ($CV = 14,9\%$) и возможность ее использования для последующих доклинических исследований.

Информация о финансировании. Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № BR25293294 «Вакцина против бруцеллеза на основе геномных технологий» на 2024–2026 годы).

Вклад авторов. Алпысбаева С.Е. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментальной части, статистическая обработка данных, написание текста статьи. Сармыкова М.К. – проведение бактериологических исследований. Әбдімұхтар А.Р. – работа с лабораторными животными, подготовка гомогенатов, оформление иллюстративного материала. Еспембетов Б.А. – научное руководство, редактирование и утверждение окончательного варианта статьи.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность. Авторы благодарят руководство института и сотрудников лаборатории микробиологии за всестороннюю поддержку и содействие в выполнении исследования.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Franco M.P., Mulder M., Gilman R.H., Smits H.L. Human brucellosis [Текст] / M.P. Franco, M. Mulder, R.H. Gilman, H.L. Smits // Lancet Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 7, No. 12. – P. 775–786. DOI: 10.1016/S1473-3099(07)70286-4.
2. Seleem M.N., Boyle S.M., Sriranganathan N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis [Текст] / M.N. Seleem, S.M. Boyle, N. Sriranganathan // Veterinary Microbiology. – 2010. – Vol. 140, No. 3–4. – P. 392–398. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.06.021.
3. Young E.J. An overview of human brucellosis [Текст] / E.J. Young // Clinical Infectious Diseases. – 1995. – Vol. 21, No. 2. – P. 283–290. DOI: 10.1093/clinids/21.2.283.
4. Pappas G. The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats [Текст] / G. Pappas // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2010. – Vol. 36, Suppl. 1. – P. S8–S11. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.06.013.
5. Poester F.P., Samartino L.E., Santos R.L. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock [Текст] / F.P. Poester, L.E. Samartino, R.L. Santos // Revue Scientifique et Technique. – 2013. – Vol. 32, No. 1. – P. 105–115. DOI: 10.20506/rst.32.1.2193.
6. Olsen S.C., Palmer M.V. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years [Текст] / S.C. Olsen, M.V. Palmer // Veterinary Pathology. – 2014. – Vol. 51, No. 6. – P. 1076–1089. DOI: 10.1177/0300985814540545.

7. Martirosyan A., Moreno E., Gorvel J.P. An evolutionary strategy for a stealthy intracellular *Brucella* pathogen [Текст] / A. Martirosyan, E. Moreno, J.P. Gorvel // *Immunological Reviews*. – 2011. – Vol. 240, No. 1. – P. 211–234. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00982.x.
8. Jansen W., Demars A., Nicaise C. et al. Shedding of *Brucella melitensis* happens through milk macrophages in the murine model of infection [Текст] / W. Jansen, A. Demars, C. Nicaise et al. // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – Art. 9421. DOI: 10.1038/s41598-020-66451-5.
9. Skendros P., Boura P. Immunity to brucellosis [Текст] / P. Skendros, P. Boura // *Revue Scientifique et Technique*. – 2013. – Vol. 32, No. 1. – P. 137–147. DOI: 10.20506/rst.32.1.2190.
10. Ponzilacqua-Silva B., Dadelahi A.S., Moley C.R., Abushahba M.F.N., Skyberg J.A. Metabolomic analysis of murine tissues infected with *Brucella melitensis* [Текст] / B. Ponzilacqua-Silva, A.S. Dadelahi, C.R. Moley, M.F.N. Abushahba, J.A. Skyberg // *PLOS ONE*. – 2025. – Vol. 20, No. 1. – Art. e0314672. DOI: 10.1371/journal.pone.0314672.
11. WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 3.1.4. Brucellosis* [Текст] / WOA. – Paris: WOA, 2023. – 48 p.
12. CIOMS, ICLAS. *International guiding principles for biomedical research involving animals* [Текст] / CIOMS, ICLAS. – Geneva, 2012. – 4 p.
13. AVMA. *Guidelines for the Euthanasia of Animals* [Текст] / AVMA. – Schaumburg: AVMA, 2020. – 121 p.
14. ISO 7218:2007. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations* [Текст]. – Введ. 2007–08–15. – Geneva: ISO, 2007. – 66 p.
15. Ергазина А.М., Аубакиров М.Ж., Кайыпбай Б.Б., Мурзакаева Г.К. Мониторинг эпизоотической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в регионах Республики Казахстан и в субъектах Костанайской области [Текст] / А.М. Ергазина, М.Ж. Аубакиров, Б.Б. Кайыпбай, Г.К. Мурзакаева // *3i: intellect, idea, innovation – интеллект, идея, инновация*. – Костанай. – 2025. – No. 1(3). – С. 29–39. DOI: 10.52269/KGTD253129.
16. Crawford R.M., Van De Verg L., Yuan L. et al. Deletion of *purE* attenuates *Brucella melitensis* infection in mice [Текст] / R.M. Crawford, L. Van De Verg, L. Yuan et al. // *Infection and Immunity*. – 1996. – Vol. 64, No. 6. – P. 2188–2192. DOI: 10.1128/IAI.64.6.2188-2192.1996.
17. Алпысбаева С.Е., Еспембетов Б.А., Зинина Н.Н. et al. Комиссионные испытания конъюнктивной живой сухой вакцины против бруцеллеза овец и коз из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 [Текст] / С.Е. Алпысбаева, Б.А. Еспембетов, Н.Н. Зинина et al. // *Ғылым және білім*. – 2024. – No. 4-1(76). – С. 306–318. DOI: 10.52578/2305-9397-2024-4-1-306-318.
18. Еспембетов Б.А., Сармыкова М.К., Серікбай Е.Б. et al. *Brucella melitensis* Rev-1 лиофилизатталған вакцинасының температуралық тұрақтылығын бағалау [Мәтін] / Б.А. Еспембетов, М.К. Сармыкова, Е.Б. Серікбай et al. // *Ғылым және білім*. – 2025. – No. 4-2(81). – Б. 236–245. DOI: 10.52578/2305-9397-2025-4-2-236-245.

REFERENCES:

1. Franco M.P., Mulder M., Gilman R.H., Smits H.L. Human brucellosis. *Lancet Infectious Diseases*, 2007, vol. 7, no. 12, pp. 775-786. DOI: 10.1016/S1473-3099(07)70286-4.
2. Seleem M.N., Boyle S.M., Sriranganathan N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Veterinary Microbiology*, 2010, vol. 140, no. 3-4, pp. 392-398. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.06.021.
3. Young E.J. An overview of human brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*, 1995, vol. 21, no. 2, pp. 283-290. DOI: 10.1093/clinids/21.2.283.
4. Pappas G. The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2010, vol. 36, suppl. 1, pp. S8-S11. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.06.013.
5. Poester F.P., Samartino L.E., Santos R.L. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. *Revue Scientifique et Technique*, 2013, vol. 32, no. 1, pp. 105-115. DOI: 10.20506/rst.32.1.2193.
6. Olsen S.C., Palmer M.V. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. *Veterinary Pathology*, 2014, vol. 51, no. 6, pp. 1076-1089. DOI: 10.1177/0300985814540545.
7. Martirosyan A., Moreno E., Gorvel J.P. An evolutionary strategy for a stealthy intracellular *Brucella* pathogen. *Immunological Reviews*, 2011, vol. 240, no. 1, pp. 211-234. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00982.x.
8. Jansen W., Demars A., Nicaise C. et al. Shedding of *Brucella melitensis* happens through milk macrophages in the murine model of infection. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, art. 9421. DOI: 10.1038/s41598-020-66451-5.
9. Skendros P., Boura P. Immunity to brucellosis. *Revue Scientifique et Technique*, 2013, vol. 32, no. 1, pp. 137-147. DOI: 10.20506/rst.32.1.2190.
10. Ponzilacqua-Silva B., Dadelahi A.S., Moley C.R., Abushahba M.F.N., Skyberg J.A. Metabolomic analysis of murine tissues infected with *Brucella melitensis*. *PLOS ONE*, 2025, vol. 20, no. 1, art. e0314672. DOI: 10.1371/journal.pone.0314672.

11. **WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.** Chapter 3.1.4. Brucellosis. Paris, WOAH, 2023, 48 p.
12. **CIOMS, ICLAS. International guiding principles for biomedical research involving animals.** Geneva, 2012, 4 p.
13. **AVMA. Guidelines for the Euthanasia of Animals.** Schaumburg, AVMA, 2020, 121 p.
14. **ISO 7218:2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.** Geneva, ISO, 2007, 66 p.
15. **Ergazina A.M., Aubakirov M.Zh., Kaiypbaj B.B., Murzakaeva G.K. Monitoring e'pizooticheskoy i e'pidemiologicheskoy situacii po brutsellezu v regionah Respubliki Kazakhstan i v sub"ekтах Kostanaiskoy oblasti** [Monitoring of the epizootic and epidemiological situation on Brucellosis in the regions of the Republic of Kazakhstan and in the districts of Kostanay region]. *3i: intellect, idea, innovation*, Kostanay, 2025, no. 1(3), pp. 29-39. DOI: 10.52269/KGTD253129. (In Russian)
16. **Crawford R.M., Van De Verg L., Yuan L. et al. Deletion of pure attenuates Brucella melitensis infection in mice.** *Infection and Immunity*, 1996, vol. 64, no. 6, pp. 2188-2192. DOI: 10.1128/IAI.64.6.2188-2192.1996.
17. **Alpysbayeva S.E., Espembetov B.A., Zinina N.N. et al. Komissionny'e ispy'taniya kon"iunkti-val'noj zhivoj suhoj vakciny' protiv brutselleza ovec i koz iz shtamma Brucella melitensis Rev-1** [Commission testing of a conjunctival live dry vaccine against brucellosis of sheep and goats from the Brucella melitensis Rev-1 strain]. *Gylym zhane bilim*, 2024, no. 4-1(76), pp. 306-318. DOI: 10.52578/2305-9397-2024-4-1-306-318. (In Russian)
18. **Espembetov B.A., Sarmykova M.K., Serikbai E.B. et al. Brucella melitensis Rev-1 liofilizattal-gan vaksinasynyn temperaturalyk turaktylygyn bagalau** [Assessment of the temperature stability of the lyophilized Brucella melitensis Rev-1 vaccine]. *Gylym zhane bilim*, 2025, no. 4-2(81), pp. 236-245. DOI: 10.52578/2305-9397-2025-4-2-236-245. (In Kazakh)

Дата поступления: 15 апреля 2026 г. **Принято:** 13 августа 2026 г.

Опубликовано: 30 сентября 2026 г.

Сведения об авторах:

Алпысбаева Сабира Егизбаевна* – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Республика Казахстан, 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, дом 25/1, тел.: 87787794750, 87013544886 (WhatsApp), e-mail: s.alpysbaeva@biosafety.kz.

Сармыкова Махпал Кенжеевна – научный сотрудник лаборатории «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Республика Казахстан, 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, дом 25/1, тел.: 87752250311, e-mail: m.sarmykova@biosafety.kz.

Әбдімұхтар Азамат Рүстемұлы – научный сотрудник лаборатории «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Республика Казахстан, 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, дом 25/1, тел.: 87764898174, e-mail: a.abdimukhtar@biosafety.kz.

Еспембетов Болат Аманбаевич – автор-корреспондент, заведующий лабораторией «Микробиология», ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Республика Казахстан, 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, дом 25/1, тел.: 87783705956, e-mail: b.yespembetov@biosafety.kz.

Алпысбаева Сабира Егизбаевна* – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Микробиология» зертханасының аға ғылыми қызметкері, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Қазақстан Республикасы, 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский кенті, 25/1 үй; тел.: 87787794750, 87013544886 (WhatsApp); e-mail: s.alpysbaeva@biosafety.kz.

Сармыкова Махпал Кенжеевна – «Микробиология» зертханасының ғылыми қызметкері, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Қазақстан Республикасы, 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский кенті, 25/1 үй; тел.: 87752250311; e-mail: m.sarmykova@biosafety.kz.

Әбдімұхтар Азамат Рүстемұлы – «Микробиология» зертханасының ғылыми қызметкері, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Қазақстан Республикасы, 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский кенті, 25/1 үй; тел.: 87764898174; e-mail: a.abdimukhtar@biosafety.kz.

Еспембетов Болат Аманбаевич – корреспондент-автор, «Микробиология» зертханасының меңгерушісі, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Қазақстан Республикасы, 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский кенті, 25/1 үй; тел.: 87783705956; e-mail: b.yespembetov@biosafety.kz.

Alpysbayeva Sabira Yegizbayevna* – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Republic of Kazakhstan, 080409, Zhambyl region, Korday district, 25/1 Gvardeiskiy settlement, tel.: 87787794750, 87013544886 (WhatsApp); e-mail: s.alpysbaeva@biosafety.kz.

Sarmyкова Makhpal Kenzheyevna – Researcher, Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Republic of Kazakhstan, 080409, Zhambyl region, Korday district, 25/1 Gvardeiskiy settlement, tel.: 87752250311; e-mail: m.sarmyкова@biosafety.kz.

Abdimukhtar Azamat Rustemuly – Researcher, Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Republic of Kazakhstan, 080409, Zhambyl region, Korday district, 25/1 Gvardeiskiy settlement, tel.: 87764898174; e-mail: a.abdimukhtar@biosafety.kz.

Yespembetov Bolat Amanbayevich – Corresponding Author, Head of the Laboratory of Microbiology, Research Institute for Biological Safety Problems LLP, Republic of Kazakhstan, 080409, Zhambyl region, Korday district, 25/1 Gvardeiskiy settlement, tel.: 87783705956; e-mail: b.yespembetov@biosafety.kz.

МРНТИ 68.41:31

УДК 619:614.31:634.51(510) (045)

<https://doi.org/10.52269/SEPT2631033>

САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА ГРЕЦКОГО ОРЕХА ИМПОРТИРУЕМОГО ИЗ КНР

Аутелеева Л.Т.* – PhD, ассоциированный профессор, НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет имени С. Сейфуллина», г. Астана, Республика Казахстан.

Майканов Б.С. – доктор биологических наук, профессор, НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет имени С. Сейфуллина», г. Астана, Республика Казахстан.

Смагулова А.С. – магистр ветеринарных наук, докторант, НАО «Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева», г. Астана, Республика Казахстан.

Целью работы являлось выявление соответствия импортируемой орехоплодной продукции требованиям технических регламентов. В статье представлена санитарная оценка качества и безопасности грецкого ореха, импортируемого из Китайской Народной Республики и реализуемого на продовольственных рынках Республики Казахстан. Актуальность исследования обусловлена высоким уровнем потребления орехов населением, а также рисками контаминации импортируемой продукции микотоксинами и другими опасными веществами при нарушении условий хранения, транспортировки и реализации.

В ходе исследования были отобраны образцы грецкого ореха из торговых точек различных регионов Казахстана. Оценка проводилась с использованием органолептических, физико-химических и лабораторных методов анализа. Особое внимание уделялось определению содержания афлатоксина В₁ – одного из наиболее токсичных и канцерогенных микотоксинов, представляющих опасность для здоровья человека. Полученные результаты показали, что по органолептическим показателям большинство образцов соответствовали установленным нормативам. Однако в отдельных пробах выявлено превышение предельно допустимых концентраций афлатоксина В₁, что указывает на возможные нарушения санитарных требований на этапах производства, хранения или транспортировки. На основании полученных данных предложены меры по усилению ветеринарно-санитарного контроля на таможенной границе и при реализации орехов на внутреннем рынке, направленные на снижение рисков микотоксиновой контаминации и обеспечение продовольственной безопасности населения.

Ключевые слова: качество, безопасность, контаминация, афлатоксины, грецкий орех, санитарная оценка, КНР.

ҚЫТАЙ ХАЛЫҚ РЕСПУБЛИКАСЫНАН ИМПОРТТАЛҒАН ЖАҢҒАҚТАРДЫ САНИТАРЛЫҚ БАҒАЛАУ

Аутелеева Л.Т.* – PhD, қауымдастырылған профессор, «С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті», Астана қ, Қазақстан Республикасы.

Майканов Б.С. – биология ғылымдарының докторы, профессор, «С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті», Астана қ, Қазақстан Республикасы.

Смагулова А.С. – ветеринария ғылымдарының магистрі, «Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті», Астана қ, Қазақстан Республикасы.

Жұмыстың мақсаты импортталатын жаңғақ өнімдерінің Кеден одағының техникалық регламенттерінің талаптарына сәйкестігін анықтау болды. Мақалада Қытай Халық Республикасынан әкелінген және Қазақстан Республикасының азық-түлік базарларында сатылатын жаңғақтардың сапасы мен қауіпсіздігіне санитарлық бағалау берілген. Зерттеудің өзектілігі халықтың жаңғақ тұ-