

УДК 599.323.45

Изменчивость гена *VKORC1* у серой крысы (*Rattus norvegicus*) в Центральной России

Мальцев Алексей Н.^{1,2}, Комаров Владимир Ю.², Котенкова Елена В.¹

¹*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской Академии Наук, Москва, Россия; mus-musculus@yandex.ru*

²*Институт Дезинфектологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана», Москва, Россия¹*

10.18522/2308-9709-2024-47-2

Аннотация

Для территории Центральной России проведен анализ изменчивости гена *VCORC1* (связанного с резистентностью к антикоагулянтам) у 44 серых крыс (*Rattus norvegicus*), отловленных в трех регионах Центральной России. В двух округах г. Москвы найдены серые крысы, несущие в третьем экзоне ранее известную однонуклеотидную (SNP) мутацию резистентности (Tyr139Ser) в гетерозиготном состоянии. Приводится обсуждение полученных результатов в связи с интенсивностью применения антикоагулянтов в населенных пунктах России и скоростью мутирования гена *VKORC1*.

Ключевые слова: *Rattus norvegicus*, резистентность к антикоагулянтам, *VCORC1*.

Variability of the anticoagulant resistance gene *VKORC1* in the Norway rat (*Rattus norvegicus*) in Central Russia

Maltsev Aleksey N.^{1,2}, Komarov Vladimir.Y.², Kotenkova Elena V.¹

¹*Severtsov Institute of Problems of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; email:mus-musculus@yandex.ru*

²*Institute of Disinfectology Federal Budget Establishment of Sciences “F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene” of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wel-being, Moscow, 117246 Russia*

10.18522/2308-9709-2024-47-2

Abstract

For the territory of Russia, an analysis of the variability of the anticoagulant resistance gene *VKORC1* was carried out in 44 *Rattus norvegicus* captured in three regions of Central Russia. In two districts of Moscow, Norway rats were found carrying a previously known resistance mutation (Tyr139Ser) in the third exon in a heterozygous state. A discussion of the results obtained in connection with the intensity of the use of anticoagulants in populated areas of Russia and the rate of mutation of the *VKORC1* gene is provided.

Key words: *Rattus norvegicus*, anticoagulant resistance, *VKORC1*.

Введение

Необходимость контроля численности синантропных грызунов, и в первую очередь серой крысы (*Rattus norvegicus*), определяется существенным экономическим ущербом, который они приносят, а также их эпидемиологическим значением. Дератизация стала одним из факторов отбора экстремального характера в эволюции синантропных грызунов, поскольку в настоящее время она представляет собой хорошо организованную систему мероприятий, проводимых в течение длительного срока в большей части населенных пунктов, прежде всего городах (Рыльников, 2010). По мере усовершенствования методов контроля численности, в популяциях грызунов возникают адаптации к мерам дератизации как ответ на непрерывное действие химических факторов истребления. К числу таких адаптаций можно отнести физиолого-генетическую устойчивость к родентицидам-антикоагулянтам, которые с точки зрения сохранения биоразнообразия считаются эффективными и относительно безопасными средствами контроля численности грызунов. В настоящее время весь мир широко использует непрямые антикоагулянты крови в качестве эффективных средств борьбы с грызунами. Антикоагулянты представляют собой группу родентицидов,

действующие вещества которых являются производными индан-1,3-диона и 4-гидроксикумарина. Характерной особенностью антикоагулянтов является их способность накапливаться в организме грызунов и воздействовать в малых дозах на различные факторы свертываемости крови. В связи с использованием этих родентицидов появилась надежда радикально решить проблему уничтожения источников зоонозных инфекций более безопасными и гигиеничными в сравнении с ядами острого действия средствами (Prescott, 1996). Применение антикоагулянтов первого поколения позволило европейским странам почти полностью отказаться от зооцидов острого характера действия (Greaves and Ayres, 1967). Однако надежды не оправдались, поскольку уже в 1958 году у серых крыс (Boyle, 1960), а в начале 1960-х годов у домовых мышей (Dodsworth, 1961) в Великобритании, была выявлена устойчивость к варфарину, хлорофасинону и куматетралилу, что создало серьезные проблемы для их дальнейшего применения (Buckle, 2013). Развитие резистентности грызунов к антикоагулянтам первого поколения привело к разработке в 1970-80-х гг. более токсичных антикоагулянтов второго поколения 4-гидроксикумаринового ряда (Redfern, et al., 1980; Petterino, et al., 2001). С их появлением ожидалось, что приманки на основе действующих веществ из этой группы родентицидов решат проблему резистентности грызунов к антикоагулянтам первого поколения (MacNicoll, 1988). Однако уже в 1977 г. была обнаружена резистентность серых крыс к дифенакуму (Greaves, et al., 1982), а устойчивость к бромадиолону, бродифакуму и флокумафену была установлена вскоре после их массового применения (Rowe et al. 1981; Greaves et al. 1982; MacNicoll et al. 1987; Johnson 1988).

Ген субъединицы 1 витамина К эпоксид редуктазы (*VCORC1*) был секвенирован в 2004 году и с помощью разработанной новой методики тестирования на молекулярном уровне выявлен ряд мутаций, влияющих на

резистентность (Rost et al., 2009). Физиологическая резистентность передается от родителей потомству по наследству согласно законам Менделя. Генетические исследования подтвердили моногенное, доминантное, аутосомное наследование резистентности у серых крыс. Ген *VCORC1* расположен у серых крыс в хромосоме 1 (Greaves, Ayres, 1967). Резистентность к антикоагулянтам первого и второго поколений у серых крыс обусловлена наличием следующих мутаций: Leu128Ser, Ile82Ile, Ile82Ile, Trp59Gly, Tyr139Cys, Tyr139Ser, Tyr139Phe, Leu128Gln обнаруженных в 3х экзонах гена *VCORC1*. В странах Западной Европы географическое распространение отдельных мутаций гена *VCORC1* отличается (Mooney, 2018). Существуют наиболее часто встречающиеся мутации у крыс и мышей, такие как Tyr139Cys и Leu128Ser, но каждая страна или регион характеризуется, кроме того, уникальными мутациями к антикоагулянтам, встречающимися только там. В отличие от других европейских стран, где в резистентных линиях серых крыс и мышей к варфарину выявлены одна или две мутации гена *VCORC1*, в Великобритании установлены практически все известные мутации, при этом пять из них — Leu128Gln, Tyr139Ser, Tyr139Cys, Tyr139Phe и Leu128Gln оказывают существенное влияние на эффективность антикоагулянтов первого поколения (Прескотт, 2013), обнаруженных в 3м экзоне. 3й экзон гена *VCORC1* является наиболее полиморфным из всех кодирующих участков и здесь найдено большинство известных однонуклеотидных мутаций (Pelz et al., 2005; Mooney et al., 2018). До сих пор, в России физиологическую резистентность к антикоагулянтам первого и второго поколения у синантропных грызунов оценивали только на основании устаревшего, дорогостоящего и инвазивного метода, основанного на поедании приманок, содержащие эти соединения, и определении летальной дозы. Ранее нами было исследовано лишь 19 серых крыс (Мальцев и др., 2022). Данная работа

является продолжением начатого ранее исследования по выявлению мутаций гена *VKORC1* в России.

Цель исследования: на основании секвенирования 3-го экзона гена *VCORC1* у серых крыс выявить наличие (отсутствие) мутаций, определяющих резистентность этих видов к антикоагулянтам в населенных пунктах центральной России.

Материал и методика

Мы проанализировали изменчивость гена *VCORC1* (3й экзон 250 пар нуклеотидов) у 44 серых крыс в трех населенных пунктах Центральной России: г. Москва – 29, Московская область – 7 (п. Лесной – 2, Пушкинский р-он; г. Одинцово – 5), Тульская область, г. Плавск – 8. Отлов серых крыс производился на объектах, где ранее осуществлялась обработка антикоагулянтами 1-го и 2-го поколения.

Молекулярно-генетические исследования проводились в ЦКП Молекулярной диагностики ИПЭЭ им. А. Н. Северцова РАН. Для выделения ДНК использовали наборы DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) и набор для выделения ДНК из тканей животных «Tissue» (Raissol, Sesana). Амплификация проводилась с помощью набора 2x Мастер-микс HotStarTaq Plus (Qiagen) в 25 мкл реакционной смеси, в которую входил микс из смеси полимераз (HS-Taq и Pfu), смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов, ПЦР-буфер, Mg²⁺ и другие реагенты (ДНК-матрица – 1–2 нг, деионизированная вода (H₂O) до 25 мкл, прямой и обратный праймеры – 0.5 пМ. ПЦР для тотальной ДНК серых крыс проведена с использованием следующих праймеров: экзон 3 – RE3F TGAGTTCCTGGTGTCTGTC, RE3R TTTTAGGGACCCACACACGA (Mooney et al., 2018).

Условия ПЦР: 94С – 3 мин, 35 циклов амплификации (94С – 30 с, 58С – 30 с и 72С – 1 мин и финальную достройку цепей (72С – 10 мин). Для очистки ПЦР-продуктов использовался набор QIAquick PCR Purification Kit.

Секвенирование ПЦР-продуктов проводилось по обеим цепям с помощью генетического анализатора 3500xL (Applied Biosystems). Был секвенирован участок ДНК гена (250). Выравнивание последовательностей ДНК произведено с помощью программы BioEdit v.7.0.5.3, анализ в MEGA V.10.05. Полученные нуклеотидные последовательности для обнаружения гомозиготных мутаций гена *VCORC1* сравнивались с диким типом контрольной последовательности из базы данных GenBank/NCBI: (NM_203335.2). Для обнаружения гетерозиготных мутаций сравнивали хроматограммы положения нуклеотидов в последовательностях прямого и обратного праймеров.

Результаты и обсуждение

Из 44 проанализированных серых крыс в регионах Центральной России мутации в 3-м экзоне гена *VCORC1* обнаружены только в Москве. У четырех особей в двух округах г. Москвы (Юго-Западном и Северном) в гетерозиготном состоянии была найдена одна из мутаций (Tyr139Ser) резистентности к антикоагулянтам (варфарину). Процент резистентных особей составил 13.8%. Основными действующими веществами в г. Москве во время проведения мероприятий по дезинфекции и дератизации служили антикоагулянты второго поколения – бродифакум и бромадиолон с концентрацией активного действующего вещества 0.005%. Обнаруженная нами однонуклеотидная мутация (Tyr139Ser) закрепляется в популяциях серых крыс в связи с применением антикоагулянта первого поколения – варфарина. В настоящее время в Москве не используются родентициды-антикоагулянты первого поколения (FGAR). Вероятно, нахождение варфарин – зависимой мутации связано с сохранением более раннего ее возникновения в популяциях крыс Москвы после применения антикоагулянтов 1-го поколения. Антикоагулянты второго поколения (SGAR) используются с конца 90х годов прошлого века, они более эффективны, чем антикоагулянты первого

поколения. Причин, по которым в других исследуемых регионах не было обнаружено мутаций резистентности в гене *VCORC1* может быть несколько: во-первых, особи крыс, несущие мутации, могли быть истреблены ядами более острого действия, например «крысидом» или фосфидом цинка; во вторых, мутация не закрепилась в популяции. По данным исследователей (Pelz et al., 2012), в лабораторных экспериментах мутация под действием антикоагулянтов у домовых мышей *M. musculus* может появиться уже в 1-м поколении. В-третьих, дератизационные мероприятия с использованием антикоагулянтов, проводимые на этих объектах, могли быть недостаточны и не так интенсивны, чтобы крысы могли приобрести устойчивость к ним.

Ген *VCORC1* кодирует эпоксидредуктазу витамина К (Rost et al., 2004; Li et al., 2004). Этот фермент отвечает за восстановление эпоксида витамина К_{2,3} (вит К[>]О) до ферментативно активированной формы — гидрохинона витамина К (КН₂). Эта реакция является лимитирующей стадией утилизации витамина К (Oldenburg et al., 2008). В Западной Европе обнаружено 5 главных мутаций в гене *VCORC1* (т.е., L120Q, L128Q, Y139C, Y139F, Y139S), связанных с устойчивостью к AVKs (антивитамину К) (Lasseur et al., 2005, 2007; Grandemange et al., 2009; Hodroge et al., 2011). L128Q мутация была найдена в Шотландии, L120Q в Гэпмшире и Беркшире (в Англии), Y139S в Уэльсе, Y139F во Франции и Бельгии и Y139C в Дании и Германии (Pelz et al., 2005; Rost et al., 2009). Одна из этих мутаций найдена в нашем исследовании (Y139S) в Москве. Биологическая значимость этих мутаций может быть связана с увеличением потребности в витамине К. В одном из исследований показано, что мутации Leu-120 и Tyr-139 влияют на каталитический цикл Витамина К (Matagrín et al., 2013). Более того, это исследование позволило обнаружить дополнительную продукцию 3-гидроксивитамина К у всех мутантов в положении 139. Этот результат предполагает участие Tyr-139 во второй полустадии каталитического механизма, соответствующий

дегидратации витамина К эпоксид. Как следствие, биологические затраты, наблюдаемые у линий крыс, устойчивых к Y139C и Y139S, объясняются каталитическими свойствами мутировавшего *VKORC1*, вызывающими нарушение цикла синтеза Витамина К. Таким образом, исследователи (Matagrín et al., 2013) доказали биологическое значение выделенной нами мутации Tyr139Ser в цикле витамина К.

В проведенном ранее исследовании (Миронова и др., 2020) в Москве и Московской области также была обнаружена только одна мутация Tyr139Ser у серых крыс в юго-западном округе Москве и в поселке Московский (Московская область). В нашем исследовании мутация Tyr139Ser у серых крыс была найдена в двух округах Москвы из 5 исследованных (Рис. 1).

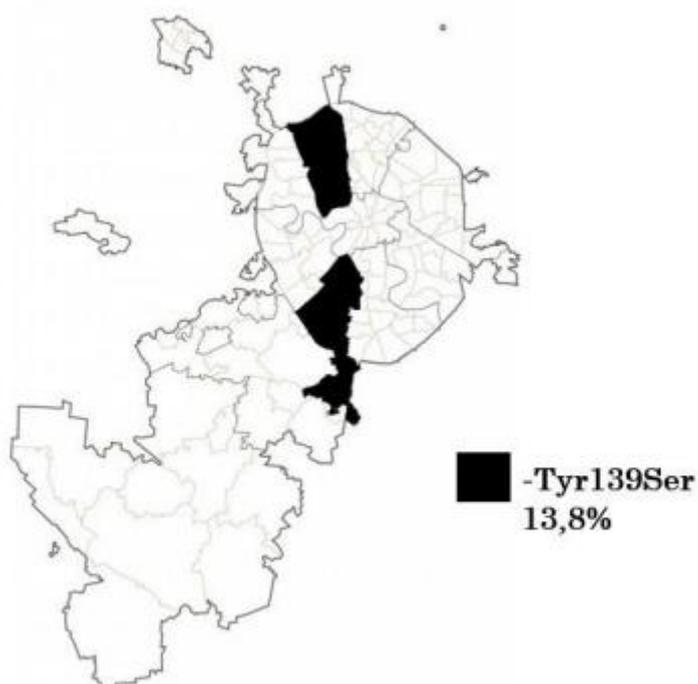


Рис.1

Как уже отмечалось, процентное соотношение особей, несущих мутации резистентности и не имеющих эти мутации, существенно различается в разных странах и в разных районах одной и той же страны и может зависеть от

интенсивности использования и набора применяемых антикоагулянтов (Goulois et al., 2017; Ma et al., 2018; Mooney et al., 2018; McGee et al., 2020;).

Устойчивость к родентицидам в населенных пунктах России у домовых мышей и серых крыс значительно ниже, чем в Западной Европе. Мутация Tyr139Ser, редкая в Европе, была найдена в двух районах Москвы. Альтернативное использование родентицидов-антикоагулянтов второго поколения (FGAR) может представлять собой эффективную стратегию против развития варфарин резистентности у серых крыс в Москве. В других городах Центральной России могут быть использованы антикоагулянты первого и второго поколения. В настоящее время в Российской Федерации известны 14 действующих веществ, на основе которых зарегистрировано 336 родентицидных средств. Наиболее многочисленной является группа антикоагулянтов кумулятивного действия I и II поколения. В последние годы в формах применения используют преимущественно антикоагулянты II поколения, обеспечивающие короткий срок гибели целевых организмов. На два родентицида — бромадиолон и бродифакум — приходится 36,1% и 32,5% производимых родентицидных препаратов соответственно (<https://portal.eaeunion.org/odata/72721/>)

Мы предполагаем, что использование более сильных родентицидов могли привести к истреблению всех особей, имеющих мутации, связанные с резистентностью к варфарину, в других населенных пунктах Центральной России. В странах Западной Европы высокая частота генотипов, устойчивых ко второму поколению антикоагулянтов, может быть связана с тем, что острые яды не используются для борьбы с домовыми мышами и серыми крысами. В настоящее время, в Западной Европе используются антикоагулянты второго поколения с концентрацией действующего вещества в 0.0025%. Это на 50% ниже, чем в России (0,005%).

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00482.

Список литературы

1. Миронова Т.А., Рыльников В.А., Богачёва А.В., Лавренченко Л.А. Распространение мутаций гена *VCORC1* и резистентность серых крыс к родентицидам-антикоагулянтам в ряде городов России // Пест-менеджмент. 2020. №1. С.5-7.
2. Прескотт С.В. Резистентность к родентицидам-антикоагулянтам. Новая молекулярная методология определения мутаций гена резистентности *VKORC1* и понимание их возможного влияния на эффективность применения препаратов // Пест-менеджмент. 2013. №4. С.39-46.
3. Рыльников В.А. Серая крыса (*Rattus norvegicus* Berk.). Экологические основы и подходы к управлению численностью. М.: НЧНОУ Институт пест-менеджмента, 2010. 367 с.
4. Boyle C.M. Case of apparent resistance of *Rattus norvegicus* Berkenhout to anticoagulant poisons // Nature. 1960. V. 188. № 4749. P. 517-517.
5. Buckle A., Endepols S., Klemann N., Jacob J. Resistance testing and the effectiveness of difenacoum against Norway rats (*Rattus norvegicus*) in a tyrosine139cysteine focus of anticoagulant resistance, Westphalia, Germany // Pest Manag Sci. 2013. V. 69. № 2. P. 233–239.
6. Buckle A. P. Anticoagulant resistance in the United Kingdom and a new guideline for the management of resistant infestations of Norway rats (*Rattus norvegicus* Berk.) // Pest Manag Sci. 2013. V. 69. № 3. P. 334–341.
7. Dodsworth E. Mice are spreading despite such poisons as warfarin // Munic Eng London. 1961. V. 3746. P. 1668-1668.

8. Goulois J., Lambert V., Legros L., Benoit E., Lattard V. Adaptive evolution of the *Vkorc1* gene in *Mus musculus domesticus* is influenced by the selective pressure of anticoagulant rodenticides // *Ecol Evol.* 2017. V. 7. №8. P. 2767–2776.
9. Grandemange A., Kohn M.H., Lasseur R., Longin-Sauvageon C., Berny P., Benoit E. Consequences of the Y139F VKORC1 mutation on resistance to AVKs:invivo investigation in the 7th generation congenic Y139F strain // *Pharmacogenet.* 2009. Genomics. V.19. P. 742–750.
10. Greaves J.H., Ayres P. Heritable resistance to warfarin in rats // *Nature.*1967. V. 215. P. 877–878.
11. Greaves J.H., Shepherd D.S., Quy R. Field trials of second-generation anticoagulants against difenacoum-resistant Norway rat populations // *J. Hyg.* 1982. V. 89. P. 295-301.
12. Hodroge A., Longin-Sauvageon C., Fourel I., Benoit E., Lattard V. Biochemical characterization of spontaneous mutants of rat VKORC1 involved in the resistance to antivitamin K anticoagulants.// *Arch. Biochem. Biophys.* 2011. V. 515. P. 14–20.
13. Johnson R.A. Performance studies with the new anticoagulant rodenticide, flocoumafen, against *Mus domesticus* and *Rattus norvegicus* // *Bull. OEPP [EPPO Bull.]*.1988. V. 18. P. 481-488.
14. Lasseur R., Longin-Sauvageon C., Videmann B., Billeret M., Berny P., Benoit E. Warfarin resistance in a French strain of rats // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2005.V.19. P. 379–385.
15. Lasseur R., Grandemange A., Longin-Sauvageon C., Berny P., Benoit E. Comparison of the inhibition effect of different anticoagulants on vitamin K epoxide reductase activity from warfarin-susceptible and resistant rat // *Pest Biochem. Physiol.* 2007. V.88. P.203–208.

16. Li T., Chang C.Y., Jin D.Y., Lin P.J., Khvorova A., Stafford D.W. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase // *Nature*. 2004. V. 427. P. 541–544.
17. Ma X., Wang D., Li N., Liu L., Tian L, Luo C et al. Low warfarin resistance frequency in Norway rats in two cities in China after 30 years of usage of anticoagulant rodenticides // *Pest Manag Sci*. 2018. V. 74. № 11. P. 2555–2560.
18. MacNicoll A.D., Gill J.E. The occurrence and significance of rodenticide resistance in the UK // *British Crop Protection Council Monograph*, No. 37. – Thornton Heath, UK: British Crop Protection Council, 1987. P. 85-95.
19. MacNicoll A.D. The influence of anticoagulant resistance on effective rodent control in the UK // *Bull. OEPP [EPPO Bull.]*. 1988. V. 18. P. 223-227.
20. Maltsev A.N., Stakhee V.V., Ryabov S.V., Gololobova T.V., Gashev S.N., Bazhenov Yu A., Kotenkova E.V. Low Level of Resistance to Anticoagulant Rodenticides in the *Vkorc1* Gene in House Mice (*Mus musculus*) and Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in Russia // *Russian Journal of Biological Invasions*, 2022. V. 13. № 3. P. 392–397.
21. Matagrín B., Hodroge A., Montagut-Romans A., Andru J., Fourel I., Julie Andru J., Besse S., Benoit E., Lattard V. New insights into the catalytic mechanism of vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*) – The catalytic properties of the major mutations of rVKORC1 explain the biological cost associated to mutations // *Open Bio*. V. 3. P. 144-150.
22. McGee C.F., McGilloway D.A., Buckle A.P. Anticoagulant rodenticides and resistance development in rodent pest species – A comprehensive review // *J Stored Prod Res*. 2020. V. 88. № 101688. P. 1-18.
23. Mooney J., Lynch M.R., Prescott C.V., Clegg T., Loughlin M., Hannon B. et al. *VKORC1* sequence variants associated with resistance to anticoagulant rodenticides in Irish populations of *Rattus norvegicus* and *Mus musculus domesticus* // *Sci Rep*. 2018. V. 8. № 4535. DOI:10.1038/s41598-018-22815-7.

24. Oldenburg J., Marinova M., Müllerreible C., Watzka M., The vitamin K cycle // *Vitam Horm.* 2008. Vol. 78. P. 35–62.
25. Pelz H.J, Rost S., Hunerberg M., Fregin A., Heiberg A.C., Baert K. et al. The genetic basis of resistance to anticoagulants in rodents // *Genetics.* 2005. V. 170. № 4. P. 1839–1847.
26. Pelz H.J., Rost S., Muller E., Esther A., Ulrich R.G., Muller C.R. Distribution and frequency of *Vkorc1* sequence variants conferring resistance to anticoagulants in *Mus musculus* // *Pest Manag Sci.* 2012.V. 68. P. 254–259.
27. Petterino C., Paolo B. Toxicology of various anticoagulant rodenticides in animals // *Vet. Hum. Toxicol.* – 2001. – Vol. 43, № 6. – P. 353-360.
28. Prescott C.V. A preliminary study of the genetics of resistance in house mice. In: Robert M. Timm R.M., Crabb C. editors.: *Proceedings of the Seventeenth Vertebrate Pest Conference*; 1996; University of California, Davis: CA; 1996. V. 17. P. 83–87.
29. Redfern R., Gill J.E. Laboratory evaluation of bromadiolone as a rodenticide for use against warfarin-resistant and non-resistant rats and mice // *J. Hyg.* 1980. V. 84. P. 263-268.
30. Rost S., Pelz H.J., Menzel S., Conzelmann E., MacNicoll A.D., León V., Song K.J., Jäkel T., Oldenburg J., Müller C.R. Novel mutations in the VKORC1 gene of wild rats and mice—a response to 50 years of selection pressure by warfarin? // *BMC Genet.* 2009. V. 10. №1. P. 1-9.
31. Rowe F.P., Plant C.J., Bradfield A. Trials of the anticoagulant rodenticides bromadiolone and difenacoum against the house mouse (*Mus musculus* L.) // *J. Hyg.* 1981. V. 87. P. 171-177.
32. Rost S., Fregin A., Ivaskevicius V., Conzelmann E., Hörtnagel K., Pelz H.J., Lappegard K., Seifried E., Scharrer I., Tuddenham E.G., Müller C.R., Strom T.M., Oldenburg J., Mutations in *VKORC1* cause warfarin resistance and

- multiple coagulation factor deficiency type 2 // Nature. 2004. V. 427. № 6974. P. 537–541.
33. Евразийская Экономическая Комиссия. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации. — URL: <https://portal.eaeunion.org/odata/72721>.

References

1. Boyle C.M. Case of apparent resistance of *Rattus norvegicus* Berkenhout to anticoagulant poisons // Nature, 1960, vol. 188, № 4749, pp. 517-517.
2. Buckle A., Endepols S., Klemann N., Jacob J. Resistance testing and the effectiveness of difenacoum against Norway rats (*Rattus norvegicus*) in a tyrosine139cysteine focus of anticoagulant resistance, Westphalia, Germany // Pest Manag Sci., 2013, vol. 69, № 2, pp. 233–239.
3. Buckle A. P. Anticoagulant resistance in the United Kingdom and a new guideline for the management of resistant infestations of Norway rats (*Rattus norvegicus* Berk.) // Pest Manag Sci., 2013, vol. 69, № 3, pp. 334–341.
4. Dodsworth E. Mice are spreading despite such poisons as warfarin // Munic Eng London. 1961. vol. 3746. pp. 1668-1668.
5. Goulois J., Lambert V., Legros L., Benoit E., Lattard V. Adaptative evolution of the *Vkorc1* gene in *Mus musculus domesticus* is influenced by the selective pressure of anticoagulant rodenticides // Ecol Evol., 2017, vol. 7, №8. pp. 2767–2776.
6. Grandemange A., Kohn M.H., Lasseur R., Longin-Sauvageon C., Berny P., Benoit E. Consequences of the Y139F VKORC1 mutation on resistance to AVKs:invivo investigation in the 7th generation congenic Y139F strain // Pharmacogenet., 2009, Genomics. vol.19. pp. 742–750.
7. Greaves J.H., Ayres P. Heritable resistance to warfarin in rats // Nature, 1967, vol. 215, pp. 877–878.

8. Greaves J.H., Shepherd D.S., Quy R. Field trials of second-generation anticoagulants against difenacoum-resistant Norway rat populations // *J. Hyg.*, 1982, vol. 89. pp. 295-301.
9. Hodroge A., Longin-Sauvageon C., Fourel I., Benoit E., Lattard V. Biochemical characterization of spontaneous mutants of rat *VKORC1* involved in the resistance to antivitamin K anticoagulants.// *Arch. Biochem. Biophys.*, 2011, vol. 515, pp. 14–20.
10. Johnson R.A. Performance studies with the new anticoagulant rodenticide, flocoumafen, against *Mus domesticus* and *Rattus norvegicus* // *Bull. OEPP [EPPO Bull.]*, 1988, vol. 18, pp. 481-488.
11. Lasseur R., Longin-Sauvageon C., Videmann B., Billeret M., Berny P., Benoit E. Warfarin resistance in a French strain of rats // *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 2005, vol. 19, pp. 379–385.
12. Lasseur R., Grandemange A., Longin-Sauvageon C., Berny P., Benoit E. Comparison of the inhibition effect of different anticoagulants on vitamin K epoxide reductase activity from warfarin-susceptible and resistant rat // *Pest Biochem. Physiol.*, 2007, vol. 88, pp. 203–208.
13. Li T., Chang C.Y., Jin D.Y., Lin P.J., Khvorova A., Stafford D.W. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase // *Nature*, 2004, vol. 427, pp. 541–544.
14. Ma X., Wang D., Li N., Liu L., Tian L., Luo C et al. Low warfarin resistance frequency in Norway rats in two cities in China after 30 years of usage of anticoagulant rodenticides // *Pest Manag Sci.*, 2018, vol. 74, № 11, pp. 2555–2560.
15. MacNicoll A.D., Gill J.E. The occurrence and significance of rodenticide resistance in the UK // *British Crop Protection Council Monograph*, № 37, Thornton Heath, UK: British Crop Protection Council, 1987, pp. 85-95.

16. MacNicol A.D. The influence of anticoagulant resistance on effective rodent control in the UK // Bull. OEPP [EPPO Bull.], 1988, vol. 18, pp. 223-227.
17. Maltsev A.N., Stakhee V.V., Ryabov S.V., Gololobova T.V., Gashev S.N., Bazhenov Yu A., Kotenkova E.V. Low Level of Resistance to Anticoagulant Rodenticides in the *Vkorc1* Gene in House Mice (*Mus musculus*) and Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in Russia // Russian Journal of Biological Invasions, 2022, vol. 13, № 3, pp. 392–397.
18. Matagrín B., Hodroge A., Montagut-Romans A., Andru J., Fourel I., Julie Andru J., Besse S., Benoit E., Lattard V. New insights into the catalytic mechanism of vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*) – The catalytic properties of the major mutations of rVKORC1 explain the biological cost associated to mutations // Open Bio, vol. 3, pp. 144-150.
19. McGee C.F., McGilloway D.A., Buckle A.P. Anticoagulant rodenticides and resistance development in rodent pest species – A comprehensive review // J Stored Prod Res, 2020, vol. 88, № 101688, pp. 1-18.
20. Mironova T.A., Rylnikov V.A., Bogacheva A.V., Lavrenchenko L.A. Distribution of *vkorc1* gene mutations and resistance of Norway rats to anticoagulant rodenticides in a number of Russian cities // Pest-Menedzhment, 2020, vol. 1, pp. 5–7. (In Russ).
21. Mooney J., Lynch M.R., Prescott C.V., Clegg T., Loughlin M., Hannon B. et al. VKORC1 sequence variants associated with resistance to anticoagulant rodenticides in Irish populations of *Rattus norvegicus* and *Mus musculus domesticus* // Sci Rep, 2018, vol. 8, № 4535. DOI:10.1038/s41598-018-22815-7.
22. Oldenburg J., Marinova M., Müllerreible C., Watzka M., The vitamin K cycle // Vitam Horm, 2008, vol. 78, pp. 35–62.

23. Pelz H.J, Rost S., Hunerberg M., Fregin A., Heiberg A.C., Baert K. et al. The genetic basis of resistance to anticoagulants in rodents // *Genetics*, 2005, vol. 170, № 4, pp. 1839–1847.
24. Pelz H.J., Rost S., Muller E., Esther A., Ulrich R.G., Muller C.R. Distribution and frequency of *Vkorc1* sequence variants conferring resistance to anticoagulants in *Mus musculus* // *Pest Manag Sci*, 2012, vol. 68, pp. 254–259.
25. Petterino C., Paolo B. Toxicology of various anticoagulant rodenticides in animals // *Vet. Hum. Toxicol*, 2001, vol. 43, № 6, pp. 353-360.
26. Prescott C.V. A preliminary study of the genetics of resistance in house mice. In: Robert M. Timm R.M., Crabb C. editors.: *Proceedings of the Seventeenth Vertebrate Pest Conference*; 1996; University of California, Davis: CA; 1996, vol. 17, pp. 83–87.
27. Prescott C. Resistance to the anticoagulant rodenticides—the deployment of the new molecular methodology to identify mutations of the *VKORC1* resistance gene, and understanding their potential impact on treatment outcome // *Pest Menedzhment*, 2013, vol. 88, no. 4, pp. 39–46. (In Russ).
28. Redfern R., Gill J.E. Laboratory evaluation of bromadiolone as a rodenticide for use against warfarin-resistant and non-resistant rats and mice // *J. Hyg*, 1980, vol. 84, pp. 263-268.
29. Rost S., Pelz H.J., Menzel S., Conzelmann E., MacNicoll A.D., León V., Song K.J., Jäkel T., Oldenburg J., Müller C.R. Novel mutations in the *VKORC1* gene of wild rats and mice—a response to 50 years of selection pressure by warfarin? // *BMC Genet*, 2009, vol. 10, №1, pp. 1-9.
30. Rost S., Fregin A., Ivaskevicius V., Conzelmann E., Hörtnagel K., Pelz H.J., Lappegard K., Seifried E., Scharrer I., Tuddenham E.G., Müller C.R., Strom T.M., Oldenburg J., Mutations in *VKORC1* cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2 // *Nature*, 2004, vol. 427, № 6974, pp. 537–541.

31. Rowe F.P., Plant C.J., Bradfield A. Trials of the anticoagulant rodenticides bromadiolone and difenacoum against the house mouse (*Mus musculus* L.) // J. Hyg, 1981, vol. 87, pp. 171-177.
32. Ryl'nikov V.A. Norway rat (*Rattus norvegicus* Berk.): Ecological foundations and approaches to population management. M.: Int. Pest Management, 2010. p. 367 (In Russ).
33. Eurasian Economic Commission. Unified register of state registration certificates. URL:<https://portal.eaeunion.org/odata/72721>.