осложнений воспалительного характера у высокопродуктивных свиноматок / А. В. Филатов, А. В. Минин // Зоотехническая наука в условиях современных вызовов : сборник трудов III научно-практической конференции с международным участием, Киров, 06–07 октября 2021 года. – Киров : Вятский государственный агротехнологический университет, 2021. – С. 147–149. 2. Латынина, Е. С. Синдром послеродовой дисгалактии свиноматок : автореф. дисс. ... канд. вет. наук : 06.02.06 / Е. С. Латынина. – Санкт-Петербург, 2022. – 18 с. 3. Минин, А. В. Профилактическая эффективность «Рутоцина» в послеродовой период / А. В. Минин, А. В. Филатов // Свиноводство. – 2023. – № 5. – С. 40–42. – DOI 10.37925/0039-713X-2023-5-40-42. 4. Филатов, А. В. Патология послеродового периода у свиноматок: высокоэффективное лечение с помощью препарата Метрамаг®-15 / А. В. Филатов, Л. М. Ушакова, В. П. Хлопицкий // Свиноводство. – 2017. – № 2. – С. 61–63. 5. Антимикробная и утеротоническая активность комплексного препарата Метрамаг®-15 при послеродовых и гинекологических заболеваниях свиноматок / В. П. Хлопицкий, А. В. Филатов, Л. М. Ушакова, М. А. Аязмов // Ветеринария. – 2019. – № 1. – С. 10–15. 6. Минин, А. В. Утеротоническая активность препарата Рутоцин при применении высокопродуктивным свиноматкам в послеродовой период / А. В. Минин, А. В. Филатов // Ветеринария. – 2023. – № 9. – С. 42–45. – DOI 10.30896/0042-4846.2023.26.9.42-45.

УДК 579.64:636.2:636.3

ТЕРАПИЯ БАКТЕРИОФАГАМИ: ПЕРСПЕКТИВНОЕ РЕШЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЛАЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С MORAXELLA, У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ОВЕЦ

Мохаммед З.С., Пименов Н.В., Иванникова Р.Ф.

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Российская Федерация

Крупный рогатый скот подвергается риску серьезных осложнений со здоровьем после заражения инфекционным кератоконъюнктивитом (ИКК), возбудителем которого преимущественно является Moraxella bovis, но он также может быть вызван Moraxella bovoculi и Moraxella ovis у овец. Тема фаготерапии для этого заболевания особенно актуально на фоне роста антибиотикорезистентности. Для идентификации и описания видов Moraxella было взято тридцать два мазка из глаз у зараженных овец и крупного рогатого скота. После выделения из московского водного канала бактериофаги были исследованы на способность лизировать моракселлы. По результатам исследований была установлена быстрая скорость адсорбции вирусов на бактериальных клетках, а также эффективная активность фагов при различных диапазонах pH и температуры. Результаты этого исследования демонстрируют перспективность терапии бактериофагами как целевого альтернативного лечения ИКК у крупного рогатого скота, указывая на необходимость дальнейшего изучения

практического применения. **Ключевые слова:** бактериофаги, ИКК, антибактериальная терапия, альтернатива, овцы, коровы, *Moraxella*.

PHAGE THERAPY: A PROMISING SOLUTION FOR MORAXELLA ASSOCIATED EYE INFECTION IN CATTLE AND SHEEP

Mohammed Z.S., Pimenov N.V., Ivannikova R.F.

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MVA named after K.I. Skryabin, Moscow, Russian Federation

*Beef cattle are at risk of serious health complications following infection with infectious keratoconjunctivitis (IBK), primarily caused by *Moraxella bovis*, but it can also be triggered by *Moraxella bovoculi* and *Moraxella ovis* in sheep. The topic of phage therapy for this disease is particularly relevant given the rise in antibiotic resistance. To identify and describe *Moraxella* species, thirty-two eye swabs were collected from infected sheep and cattle. After isolation from the Moscow Water Canal, bacteriophages were tested for their ability to lyse *Moraxella*. The research results demonstrated a rapid rate of virus adsorption to bacterial cells, as well as effective phage activity across various pH ranges and temperatures. These findings indicate the potential of phage therapy as a targeted alternative treatment for IBK in cattle, highlighting the need for further study into its practical application. **Keywords:** bacteriophages, IBK, antibacterial therapy, alternative, sheep, cattle, *Moraxella*.*

Введение. Инфекционный кератоконъюнктивит крупного рогатого скота (ИКК), который вызывается, в основном, бактериями *Moraxella bovis* и *Moraxella bovoculi*, также обычно называемый "розовым глазом", является распространенным заболеванием и способен оказывать значительные экономические ущербы для хозяйств. Эти грамотрицательные организмы вызывают тяжелый конъюнктивит и язвы роговицы, что может привести к слепоте и значительным проблемам с общим состоянием пораженных животных, потере упитанности и иммуносупрессии [2]. Заболевание обычно наблюдается у молодняка, особенно в теплые месяцы, когда интенсифицируется лет мух, известных как переносчиков *Moraxella spp.* [5]. Влияние ИКК на здоровье и продуктивность скота сделало его объектом внимания ветеринарных исследований, направленных на установление наиболее оптимальных способов терапии и контроля этого заболевания.

Традиционные методы лечения ИКК часто включают использование антибиотиков и противовоспалительных препаратов. Однако эти методы имеют ограничения. Резистентность к антибиотикам становится все более актуальной проблемой, поскольку многие бактериальные штаммы проявляют лекарственную устойчивость, что приводит к неэффективности лечения [1].

В отличие от вышеупомянутых способов терапии, бактериофаги представляют собой перспективную альтернативу традиционным методам лечения. Бактериофаги, или фаги, являются вирусами, которые специфически инфицируют и лизируют бактериальные клетки, имея целенаправленный подход к бактериальным инфекциям [4]. Одним из основных преимуществ фаговой терапии является ее специфичность, фаги способны атаковать

определенные штаммы и виды бактерий, при этом, не повреждая полезную микрофлору или эукариотические клетки хозяина [3].

Возрастающая распространенность антибиотикорезистентности и высокая необходимость в эффективных альтернативных методах лечения вновь привлекли внимание к фаговой терапии как оптимального способа для борьбы с инфекциями, вызванными *Moraxella*, у крупного рогатого скота. Немаловажным является удобство применения препаратов при беспривязном содержании.

Материалы и методы исследований. Было собрано 32 мазка из глаз у крупного рогатого скота и овец с клиническими признаками ИКК. Образцы были взяты на различных фермах в Москве и Дагестане, с использованием зонд-тампонов с питательной средой. Отобранные образцы инкубировались в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов. Инкубированный материал был засеян на 10 % кровяной агар и агар МакКонки, после чего посева инкубировали при 37 °С в течение 24-48 часов. Колонии, напоминающие *Moraxella*, идентифицировались по морфологическим характеристикам (маленькие, круглые, бело-серые колонии с выпуклым центром и гемолизом) и биохимическими тестами, включая тесты на оксидазу, каталазу и ДНК-азу, а также подтверждались методом MALDI-TOF.

Бактериофаги выделяли из акватории реки Москвы. Отобранные образцы фильтровались с использованием хлороформа и смешивались с бактериальным штаммом-хозяином (*Moraxella*) в питательном бульоне, полученную смесь инкубировали при 37°С в течение 24 часов для стимуляции репликации фагов. После инкубации смесь фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм для удаления бактериальных клеток, в результате чего получился фильтрат, содержащий фаги, потенциально специфичные к *Moraxella*. Фильтрат подвергали двойному слоевому агаровому анализу (метод по Грациа), где его смешивали с мягким агаром и выливали на твердую агаровую пластинку. После инкубации зоны негативных колоний (бляшки) указывали на наличие лизирующих фагов.

Выделенные фаги были подвергнуты экспериментам для оценки их активности и определения температурного диапазона, при котором они способны оставаться активными. Лизирующая активность оценивалась при инкубации фаговых суспензий при разных температурах (-20 °С, 4 °С, 25 °С, 37 °С, 40 °С, 50 °С и 60 °С). Путем культивирования смесей фагов и бактерий при различных значениях рН (3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 и 9,0) было найдено оптимальное значение рН для активности фагов. Скорость адсорбции фагов на бактериальных клетках измерялась по методу одиночного цикла для определения латентного времени и величины выхода бактериофагов.

Результаты исследований. Из материала смывов из глаз от инфицированного крупного рогатого скота было изолировано две *Moraxella bovis* и четыре *Moraxella bovoculi*, а из материала смывов из глаз овец – три изолята *Moraxella ovis*.

Колонии бактерий рода *Moraxella* были бело-серого цвета, маленькие, с выпуклой формой и образовывали гемолиз на кровяном агаре. Они давали грамтрицательную окраску и положительные результаты теста на каталазу и оксидазу.

Эффективность изолированных фагов против *Moraxella bovis*, *bovoculi* и *ovis* была оценена в ходе *in vitro* исследований в жидкой культуре, демонстрирующих значительную лизирующую активность фагов.

После инкубации при температурах от -20 °С до 40 °С бактериофаги сохраняли активность, однако при 50 °С они теряли свою активность. В широком диапазоне рН фаги оставались активными (5–8). По итогам тестов на адсорбцию было установлено, что менее чем за 30 минут почти 87 % фагов прилипало к бактериальным клеткам. Время латентного периода у бактериофагов составляло около 40 минут, а величина выхода – примерно 55 фаговых частиц на инфицированную клетку. Полученные результаты демонстрируют потенциал бактериофагов как антибактериального агента для лечения ИКК у коров, подтверждая свою сильную *in vitro* лизирующую активность против *Moraxella spp.*

Заключение. Это исследование подчеркивает потенциальную пользу антибактериальной терапии бактериофагами как целевой альтернативы традиционным антибиотикам для лечения инфекционного кератоконъюнктивита (ИКК) у крупного рогатого скота и овец. Обнаружение и идентификация специфических фагов, способных эффективно лизировать виды *Moraxella*, делает возможным использование фагов для борьбы с нарастающей проблемой антибиотикорезистентности в сфере ветеринарной медицины. По результатам исследования установлено, что выделенные фаги сохраняют активность в различных экологических условиях, что свидетельствует об их потенциале как терапевтического подхода к лечению ИКК.

Необходимо провести дополнительные исследования, чтобы определить жизнеспособность выделенных фагов в полевых условиях и оценить ее эффективность непосредственно на целевых животных. Важно отметить, что получение стабильной лекарственной суспензии позволит исполнить ее методом впрыскивания в пораженные органы зрения, не прибегая к трудоемкой фиксации животных, особенно в условиях беспривязного содержания. В настоящее время подготовлен прототип биопрепарата, проводятся доклинические испытания на кроликах.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00168 <https://rscf.ru/project/24-26-00168/>.

Литература. 1. Bengtsson, B. Antibiotic resistance-consequences for animal health, welfare, and food production / B. Bengtsson, C. Greko // *Upsala Journal of Medical Sciences*. – 2014. – Vol. 119, № 2. – P. 96-102. 2. Component Causes of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis - The Role of *Moraxella* Species in the Epidemiology of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis / J. D. Loy [et al.] // *Vet. Clin. North. Am Food Anim Pract.* – 2021. – Vol. 37, № 2. – P. 279-293. 3. Nikolich, M. P. Bacteriophage Therapy: Developments and Directions / M. P. Nikolich, A. A. Filipov // *Antibiotics (Basel)*. – 2020. – Vol. 9, № 3. – P.135. 4. Phage Therapy: A Different Approach to Fight Bacterial Infections / Z. Hibstu [et al.] // *Biologics*. – 2022. – Vol. 16. – P. 173-186. 5. Takele, G. Epidemiology of infectious keratoconjunctivitis in cattle in south-east Ethiopia / G. Takele, A. Zerihun // *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* – 2000. – Vol. 47, № 3. – P. 169-173.