

На правах рукописи

Киянчук Маргарита Владимировна

**ИНТРАНАЗАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ ПРИ
БРОНХОПНЕВМОНИЯХ ТЕЛЯТ ИНФЕКЦИОННОЙ ЭТИОЛОГИИ**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2026

Работа выполнена на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Научный руководитель – **Сухинин Александр Александрович**,
доктор биологических наук, профессор.

Официальные оппоненты: **Плешакова Валентина Ивановна**,
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», кафедра ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней, профессор;

Феоктистова Наталья Александровна,
кандидат биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», кафедра микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, доцент.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ).

Защита состоится «23» апреля 2026 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета 35.2.034.01 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д. 5, тел. 8(812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СПбГУВМ по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5., и на официальном сайте <http://spbguvm.ru>

Автореферат разослан: «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Надежда Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Одной из экономически важных проблем животноводства в мире и Российской Федерации, в том числе Ленинградской области являются инфекционные болезни респираторной системы крупного рогатого скота, а именно бронхопневмония (Н.Н. Шульга, 2016; Н.П. Тулева, 2009; С.Н. Золотухин, 2007; Н.А. Кольберг, 2013; И. М. Донник, 2013, 3.3. Ильясова с соавт., 2024). По литературным данным у 25% телят регистрируют болезни дыхательной системы в течение первого года жизни (L.Zecchinon, et al., 2005; А.В. Пчельников с соавт., 2025). Спектр возбудителей бактериальной бронхопневмонии у молодняка крупного рогатого скота в животноводческих комплексах весьма обширен (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, *Pasteurella multocida*, *Diplococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Gallibacterium anatis*), однако наибольший интерес из всего многообразия представляет *Klebsiella pneumoniae*, биоплёнкообразование которой является одним из основных вирулентных характеристик данного микроорганизма. Внеклеточный матрикс может обуславливать значительное снижение терапевтического эффекта при назначении животным курса антибиотиков или бактериофагов.

Разработка и совершенствование лечебно-профилактических мероприятий при болезнях дыхательной системы животных не теряет своей актуальности. Антибиотики широко применяются в животноводстве, их бесконтрольное применение для борьбы с болезнями инфекционной этиологии приводит к значительному распространению антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов, что затрудняет дальнейшее проведение лечебных мероприятий. (А. В. Забровская, 2012; С.А. Макавчик с соавт., 2023).

Применение литических бактериофагов является альтернативой или дополнением использования антибиотиков и других антибактериальных средств. Однако в связи с возможностью развития фагоустойчивости бактерий необходим постоянный поиск новых природных, литических бактериофагов. Кроме того, природные, немодифицированные литические фаги являются не только первоначальной основой для фагосодержащей продукции, но и носителями генетической информации, позволяющей разрабатывать генетически-модифицированные фаги (Z.D. Moye et al., 2018; G. Verbeken et al., 2014). Актуальность изучения фагов также связана с возрастающей резистентностью микроорганизмов к антибиотикам. Фаговую терапию можно применять для лечения животных при инфекциях, вызванных устойчивыми к лекарственным препаратам возбудителями и получения продукции без остаточного количества антибиотиков (Е. Е. Айшпур с соавт., 2015; Е. С. Кострова с соавт., 2016; Н.Н. Шульга с соавт., 2016; С.Н. Золотухин, 2007; Н.А. Феоктистова с соавт., 2017).

Фаготерапия рассматривается в качестве альтернативы антибиотикам в условиях нарастающей антибиотикорезистентности среди возбудителей ряда инфекционных болезней, в том числе бронхопневмонии. С целью улучшения эффективности фаготерапии ведутся исследования по выделению новых вирусов, специфичных к мультирезистентным бактериям и изучению экологии

бактериофагов (Н.А. Феоктистова с соавт., 2017; S. T. Abedon et al., 2011). Несмотря на многообразие изолированных из различных объектов бактериофагов, наличие у бактерий систем противовирусной защиты актуализирует постоянный поиск новых фагов и оценку их литической активности (L. Payne et al., 2021).

Важным направлением поиска природных вирулентных бактериофагов по отношению к бактериям, образующим биоплёнки, является их выделение и включение в схему лечебно-профилактических мероприятий. Оценка бактериофагов, эффективных в отношении биопленкообразующих бактерий, важна, так как феномен повышенной, не обусловленной генетически антибиотикотолерантности бактерий, снижает эффективность фаготерапии (Х.М. Галимзянов с соавт., 2018; S.T. Abedon 2016; P.S. Stewart 2014). Проблема нарастания количества антибиотикорезистентных изолятов среди возбудителей инфекционных болезней респираторной системы животных приводит к возрождению интереса к фаготерапии и активному внедрению её в схему лечебно-профилактических мероприятий в животноводстве. Тенденция к образованию биоплёнок усиливается при действии на *K. pneumoniae* ряда антибиотиков – гентамицина, амикацина, тетрациклина (И.В. Чеботарь с соавт., 2020; Н.И. Игнатова с соавт., 2020).

Включение препаратов на основе бактериофагов в схему лечебно-профилактических мероприятий при бронхопневмонии крупного рогатого скота инфекционной этиологии на фоне нарастающей антибиотикорезистентности может быть эффективно в условиях животноводческих комплексов для сохранения поголовья и продуктивности животных.

Степень разработанности темы исследования.

Болезни лёгких инфекционной этиологии являются одной из ведущих причин гибели крупного рогатого скота и ассоциированы с такими бактериальными возбудителями, как: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, *Histophilus somni*, *Pasteurella multocida*, *Diplococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Gallibacterium anatis*. В пробах практически всех отделов респираторного тракта исследователи обнаруживают *M. haemolytica* и *P. multocida*. В 2020 году на территории Российской Федерации по данным информационно-аналитического центра Россельхознадзора выявлено 459 случаев пастереллёза КРС. В условиях промышленного животноводства при скученном содержании животных, наличии стрессовых факторов наблюдается смешанная форма инфекционной пневмонии. Среди возбудителей выделяют *Pasteurella sp.* *Salmonella sp.* и другие условно-патогенные микроорганизмы (В. И. Плешакова с соавт., 2012; В. Desmolaize et al., 2011; Мазур Т. В. с соавт., 2008; van der Vinne et al., 2005).

Согласно исследованиям среди условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от телят с признаками катаральной бронхопневмонии высокий уровень резистентности, наблюдается к бензилпенициллину (89,8%), линкомицину (96,9%) (Коцюмбас И. Я. с соавт., 2014).

Возможно применение комбинированной схемы фаг-антибиотик. При этом усиливается эрадикация бактерий и предотвращается появление устойчивых штаммов, по сравнению с лечением одним фагом или антибиотиком в отдельности

(А. С. Андрусевич с соавт., 2018; А. Г. Глотов с соавт., 2014; А. И. Лаишевцев с соавт., 2017; V. Catry et al., 2005).

Цель и задачи исследования. Цель изучить спектр возбудителей бронхопневмонии и разработать научно-обоснованную схему интраназального применения бактериофагов при бронхопневмониях телят инфекционной этиологии.

Основные задачи исследования:

1. Провести эпизоотологическое обследование животноводческих комплексов Ленинградской области с целью выявления бронхопневмонии у телят бактериальной этиологии.
2. Определить спектр возбудителей бактериальной бронхопневмонии телят.
3. Выделить бактериофаг, потенциально эффективный при лечении животных при бронхопневмонии бактериальной этиологии и оценить его биологические свойства.
4. Оценить эффективность сочетанного применения бактериофагов с коллоидным серебром для ингибирования биоплёнки возбудителей бронхопневмонии и включить данный комплекс в схему лечебно-профилактических мероприятий животноводческих комплексов.
5. Разработать схему интраназального применения бактериофагов телятам с бронхопневмонией бактериальной этиологии в условиях животноводческого комплекса.

Научная новизна исследований.

Впервые выделен бактериофаг эффективный в отношении гипермукоидной *Klebsiella pneumoniae*.

Экспериментально доказана способность комплекса бактериофага с коллоидным серебром ингибировать образование биоплёнки *in vitro*.

Разработана и экспериментально подтверждена эффективность интраназальной фаготерапии для проведения терапевтических мероприятий при бронхопневмонии молодняка крупного рогатого скота.

Впервые предложен интраназальный метод введения препарата бактериофагов сельскохозяйственным животным (телята). Разработана и внедрена схема интраназального введения бактериофагов в условиях животноводческого комплекса при бронхопневмониях телят инфекционной этиологии. Экспериментально и практически доказана возможность применения бактериофагов при бронхопневмонии телят в условиях животноводческих комплексов.

Теоретическая и практическая значимость. Проанализирован спектр возбудителей бронхопневмонии среди телят животноводческих комплексов Ленинградской области.

Определен видовой состав и бактериологическая общность микроорганизмов, вызывающих бронхопневмонию у молодняка крупного рогатого скота. Изучены основные биологические свойства выделенной микрофлоры, их чувствительность к антибиотикам, бактериофагам, так же оценена способность возбудителей образовывать биоплёнку (База данных «Оценка тенденции к образованию

биоплёнки *Klebsiella pneumoniae* спектрофотометрическим методом» № 2026620103 от 23.12.2025).

Разработан и подтверждён метод эффективного выделения вирулентных бактериофагов из объектов окружающей среды (База данных «Морфология негативных колоний вирулентного бактериофага *Klebsiella pneumoniae*» № 2025625499 от 26.11.2025).

Экспериментально и практически доказано, что интраназальное введение бактериофагов рационально при лечении телят с бронхопневмонией в условиях животноводческого комплекса, что документально подтверждается справками о внедрении результатов научного исследования.

Полученные результаты создают перспективы использования препаратов на основе бактериофагов в комплексе мероприятий по профилактике и терапии крупного рогатого скота с бронхопневмонией, ассоциированной с антибиотико-резистентными биоплёнкообразующими возбудителями.

Методические указания по интраназальной фаготерапии (утверждены методическим советом ФГБОУ ВО СПбГУВМ, протокол № 10 от 17.12.2025) и справка о внедрении результатов научного исследования в учебный процесс демонстрируют практическую ценность проведённой работы. Разработанные учебно-методические материалы применяются на лекционных и практических занятиях в ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Методология и методы исследования. Методологическую основу работы составили анализ литературы по проблеме и традиционные общепринятые методики исследований (эксперимент). Анализ литературных данных проведён с использованием баз данных РИНЦ, Scopus, Web of Science, Library Genesis, Google Scholar, PubMed, Cyberleninka. В работе использовали микробиологические, биотехнологические, эпизоотологические и спектрофотометрические методы с последующей компьютерной статистической обработкой и научным анализом полученных данных. Более подробно этапы проведения экспериментов отражены в разделе «Материалы и методы исследований». Статистическую обработку полученного цифрового материала проводили с использованием метода вариационной статистики и применением критерия погрешности по Стьюденту и критерию Манна-Уитни (U test) в программном обеспечении Microsoft 365 (Office 365).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Бронхопневмония бактериальной этиологии у телят в животноводческих комплексах в Ленинградской области в 16,21% случаев вызвана *Proteus mirabilis*, 11,89% – *Escherichia coli*, 5,95% – *Klebsiella pneumoniae*, 3,24% – *Moraxella bovoculi*, 1,62% – *Mannheimia haemolytica*;
2. Установлено, что 100% изолятов *Klebsiella pneumoniae* полирезистентны и проявляют значительное биоплёнкообразование;
3. Выделенный из сточных вод животноводческих комплексов бактериофаг, обладает высокой специфичностью к *Klebsiella pneumoniae* и выраженной литической активностью ($9,6 \times 10^5 \pm 0,131$ БОЕ/мл) в отношении бактериальных культур;

4. Применение комплекса бактериофага с коллоидным серебром способствует ингибированию биоплёнки;
5. Применение бактериофага в комплексе с коллоидным серебром телятам интраназально в дозе 3,0 мл в каждое носовое отверстие, курсом 3 дня эффективно при бактериальной бронхопневмонии.
6. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат, потраченных на лечение телят, больных бронхопневмонией, с применением комплекса бактериофага с коллоидным серебром составила 5,8 руб.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов подтверждается использованием репрезентативной выборки объектов исследования, соответствующей целям и задачам, согласно заранее утвержденному плану его проведения; неоднократной доказанностью повторения полученных результатов; проведением исследований на сертифицированном оборудовании; достаточным объемом обработанного фактического материала с использованием метода вариационной статистики, адаптированного к проведению биологических исследований.

Результаты диссертационной работы апробированы на научно-практических конференциях международного значения: XI международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 24 ноября 2022 года); I Международная научная конференция «Ветеринарная лабораторная практика» (Санкт-Петербург, 17 апреля 2023 года); II Международная научная конференция «Ветеринарная лабораторная практика» (Санкт-Петербург, 18 апреля 2024 года); Международная научно-практическая конференция «Теория и практика клинической биохимии и лабораторной диагностики», посвященной 105-летию кафедры биохимии и физиологии СПбГУВМ (Санкт-Петербург, 17-18 декабря 2024 года); XXXII Московский ветеринарный конгресс (Москва, 10-12 апреля 2024 года); Национальная научная конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ (Санкт-Петербург, 28 января 2025 года); III международная научная конференция «Ветеринарная лабораторная практика» (Санкт-Петербург, 27 февраля 2025 года); XXXIII Московский международный Ветеринарный конгресс (Москва, 9-11 апреля 2025).

Личный вклад автора. Результаты исследований, представленных в диссертационной работе, выполнены аспирантом лично. Автором сформулированы цель и задачи исследования, а также выполнены экспериментальные исследования, интерпретированы полученные результаты исследований. Написание и оформление диссертационной работы автором осуществлены лично. Часть исследований и публикации проведены и написаны в соавторстве. Соавторы научных публикаций не возражают против использования в диссертации материалов совместных исследований, что подтверждено справками.

Соответствие работы паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных, пункты: 7, 9, 18, 20.

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ в том числе 6 – в журналах из Перечня ВАК при Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 175 страницах компьютерного текста и включает в себя введение, обзор литературы, собственные исследования, материалы и методы исследований, выводы, практические предложения, список литературы и приложения. Работа иллюстрирована 26 таблицами, 29 рисунками. Список литературы включает 285 источников в том числе 213 источников иностранных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Работа выполнена в период с 2022 года по 2025 год на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Объектом исследования явилось изучение влияния комплекса бактериофага с коллоидным серебром на эффективность лечения телят при бактериальной бронхопневмонии, изучение биохимических свойств возбудителей бронхопневмонии и их чувствительность к АМП, изучение тенденции к образованию биоплёнки возбудителей бронхопневмонии.

Предметом исследования было изучение биологических свойств бактериофага, выделенного из сточных вод животноводческих комплексов, ингибирующего образование биоплёнки *Klebsiella pneumoniae*.

При взятии и подготовке для исследований образцов сточных вод и носоглоточной слизи телят соблюдали меры, предупреждающие контаминацию возбудителями объектов внешней среды, руководствуясь соответствующими правилами и инструкциями.

Образцы носоглоточной слизи отбирали от телят йоркширской и чёрнопёстрой породы в возрасте от 1 до 3 месяцев, содержащихся в животноводческих хозяйствах Ленинградской области.

Перед проведением клинического исследования бактериофага на животных в животноводческом комплексе провели серию опытов на лабораторных животных, которые прошли карантинирование и клинический осмотр. При работе с животными соблюдали основные принципы Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях и «Правила надлежащей лабораторной практики» (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 года N 199н). Условия содержания лабораторных мышей соответствуют требованиям СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» и ГОСТу 33216-2014. Помещение вивария оборудовано системами хозяйственно-питьевого, горячего водоснабжения и канализацией. Помещениям, предназначенным для содержания лабораторных мышей, присвоен номер и наименование.

Для производственного опыта животных (n=369) предварительно разделяли на группы: 1 – больные бронхопневмонией; 2 – больные бронхопневмонией, которым был назначен курс бактериофагов; 3 – больные бронхопневмонией, которым был назначен комплекс бактериофагов с коллоидным серебром, 4 – (контроль) клинически здоровые телята.

Все животные находились под наблюдением в течение 10 суток. У телят проводили отбор носоглоточной слизи. Животные каждой группы содержались изолировано друг от друга и находились в идентичных условиях кормления, содержания и ухода согласно приказу Минсельхоза России от 13.12.2016 №551. Отбор биоматериала проводили при помощи стерильного тупфера и помещали в транспортную систему со средой Кэри-Блэйра (ООО «ПОЛИГЕМ», ТУ 20.59.52-004-18847814-2021).

Мониторинг эпизоотического состояния животноводческих комплексов.

В рамках выполнения диссертационных исследований проведён мониторинг эпизоотического состояния двух животноводческих комплексов Ленинградской области по содержанию крупного рогатого скота согласно Закону РФ от 14.05.1993 N 4979-1 (ред. от 28.12.2024) "О ветеринарии". В работе использован комплексный эпизоотологический подход по В.П. Урбану (В.П. Урбан с соавт. 1991). Провели общий и санитарный осмотр объектов, также изучили документацию ветеринарного учёта, руководствуясь Едиными ветеринарными (ветеринарно-санитарными) требованиями, предъявляемые к объектам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору), утверждённые Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13.02.2018 г. №27. Доминирующие нозологические единицы оценивали путём построения диаграмм Парето.

Культивирование и идентификация бактериальных возбудителей бронхопневмонии. Для выделения чистых культур микроорганизмов проводили посев биоматериала (n=369) на дифференциально-диагностические питательные среды. Обнаружение различных штаммов микроорганизмов осуществляли с применением коммерческих питательных сред и реактивов (ФГБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск; HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия). Гипермукоидность изолятов *Klebsiella pneumoniae* определяли при постановке string-теста по методике, описанной Y. Hadano (Y. Hadano, 2013). Типирование изолятов (n=369) проводили согласно определителю микробов Берджи (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2001) на основе анализа их морфологических и культурально-биохимических свойств. Вирулентность выделенных культур определяли постановкой биопробы на белых мышах путём подкожного введения смыва суточной агаровой культуры в дозе 0,2 мл подкожно (n=11).

Оценка биоплёнообразования. Оценку биоплёнообразования у *Klebsiella pneumoniae* провели при помощи спектрофотометрического метода с использованием кристаллического фиолетового (Crystal Violet Assay) по методике, предложенной O'Toole (G.A. O'Toole et al., 1998). Измерения проводили на спектрофотометре КФК-3-01 при длине волны 570 нм.

Оценка чувствительности к АБП. При оценке чувствительности возбудителей бронхопневмонии, изолированных из носоглоточной слизи телят придерживались МУ 3.1.4.110-24 «Профилактика инфекционных болезней.

Безопасная техника выполнения микробиологических работ с патогенными биологическими агентами. Методические указания», утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 25.12.2024, «Диско-диффузионный метод EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) по оценке антимикробной чувствительности» (Версия 15.0, 2025-01-01). При определении чувствительности к АМП применили контрольные штаммы микроорганизмов: *Escherichia coli* K-12 B-73, *Escherichia coli* 18 B-7794, *Proteus vulgaris* НХ 19 222, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae sp.* ATCC 13883, *Proteus mirabilis* ATCC 12453, *Mannheimia haemolytica* №29696.

Выделение бактериофагов. Выделение бактериофагов осуществляли из сточных вод животноводческих комплексов (n=50) согласно схеме (рис. 1), применив классический метод микробного обогащения, разработанный С.Виноградским и М. Бейеринком (Аbedon S.Т., 2014). После отбора биоматериала, провели пробоподготовку, после чего приступить к последующим этапам выделения вируса.

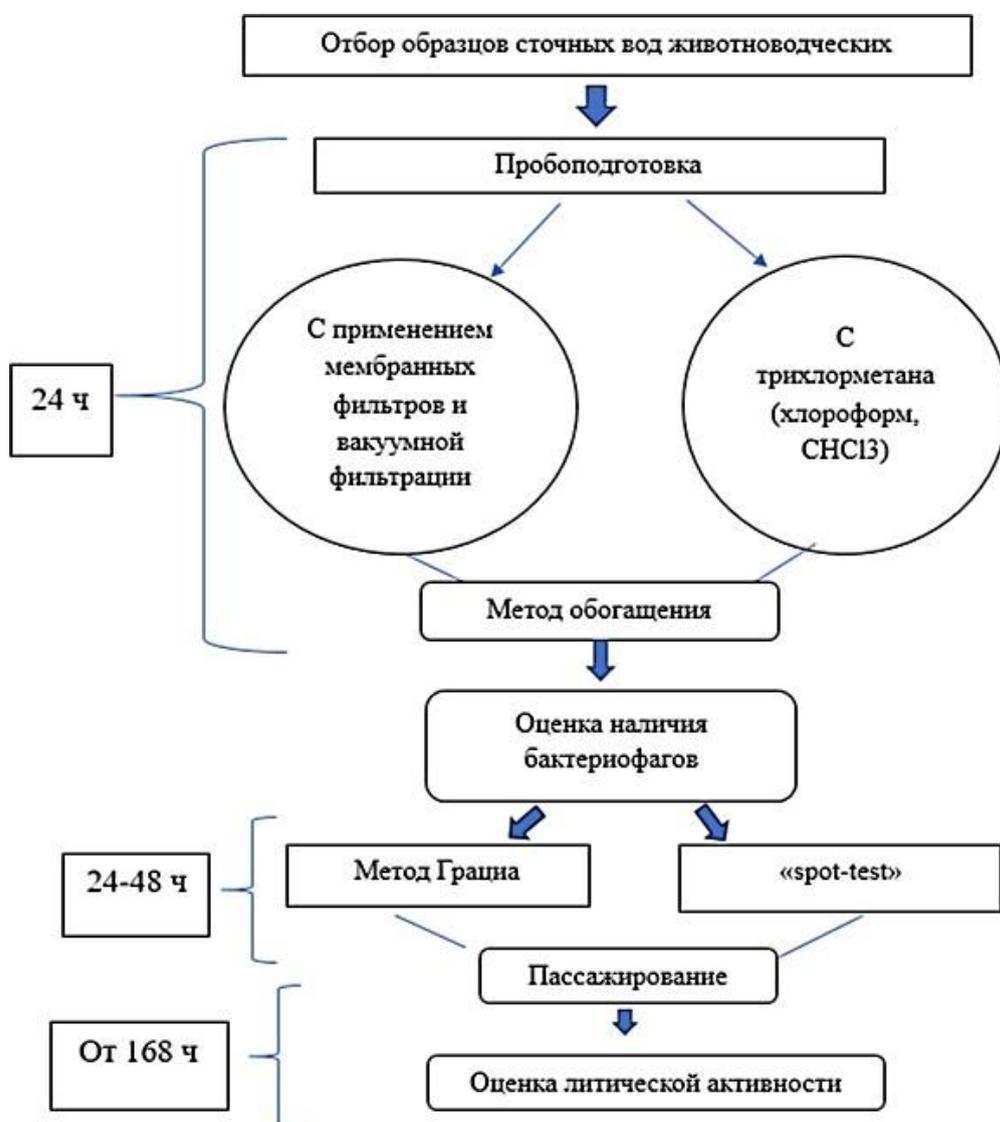


Рисунок 1- Схема выделения бактериофагов из объектов окружающей среды

Оценка литической активности бактериофагов. С целью оценки литической активности коммерческих и выделенных из сточных вод животноводческих комплексов фаголизатов применили общепринятые методы: метод Грациа (агаровых слоёв), «spot-test» и метод Аппельмана («ОФС.1.7.1.0002.15. Общая фармакопейная статья. Бактериофаги» на основании приказа Минздрава России от 31.10.2018 N 749.). Коммерческие препараты бактериофагов были выбраны исходя из спектра возбудителей, изолированных от телят с клиническими признаками бронхопневмонии.

Изучение эффективности применения бактериофагов на мышах и телятах. Ингаляцию проводили на мышах с применением компрессорного четырёхрежимного ингалятора Неб-Эйд (Flaem Nuova, Италия). Использовали распылитель «Рапидфлаем 2» в режиме I (размер частиц 0,8-2,0 µm). После каждой ингаляции распылитель подвергали дезинфекции, промывке и просушке при температуре 25 °С. Интраназальное введение осуществляли телятам в количестве 3,0 мл препарата в каждое носовое отверстие три раза в сутки в течение трёх дней.

Статистическую обработку полученного цифрового материала проводили с использованием метода вариационной статистики и применением критерия погрешности по Стьюденту и критерию Манна-Уитни (U test) в программном обеспечении Microsoft 365 (Office 365).

Результаты исследования

Мониторинг эпизоотического состояния животноводческих комплексов

Согласно плана противоэпизоотических мероприятий в исследуемых хозяйствах были проведены плановые вакцинации поголовья комбинированной вакциной против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 и вирусной диареи, что позволяет исключить вирусную этиологию бронхопневмонии в исследуемых животноводческих комплексах. Дератизацию и дезинсекцию проводят согласно плану, наличие грызунов и эктопаразитов не зарегистрировано, однако в хозяйстве №1 отмечены нарушения герметичности в зоне крыши.

Соблюдение норм микроклимата в помещениях по содержанию животных исключает неспецифическую бронхопневмонию. Среди телят в исследуемых комплексах у 10% нами зарегистрирована бронхопневмония, инфекционная этиология которой подтверждена дальнейшими исследованиями.

Спектр возбудителей бронхопневмонии телят в животноводческих комплексах

В результате микробиологических исследования носоглоточной слизи были выделены и типизированы микроорганизмы. У больных пневмонией выявлена иная микробиота носоглоточной слизи по сравнению с клинически здоровыми животными, структура которой наглядно представлена на Рисунке 2.

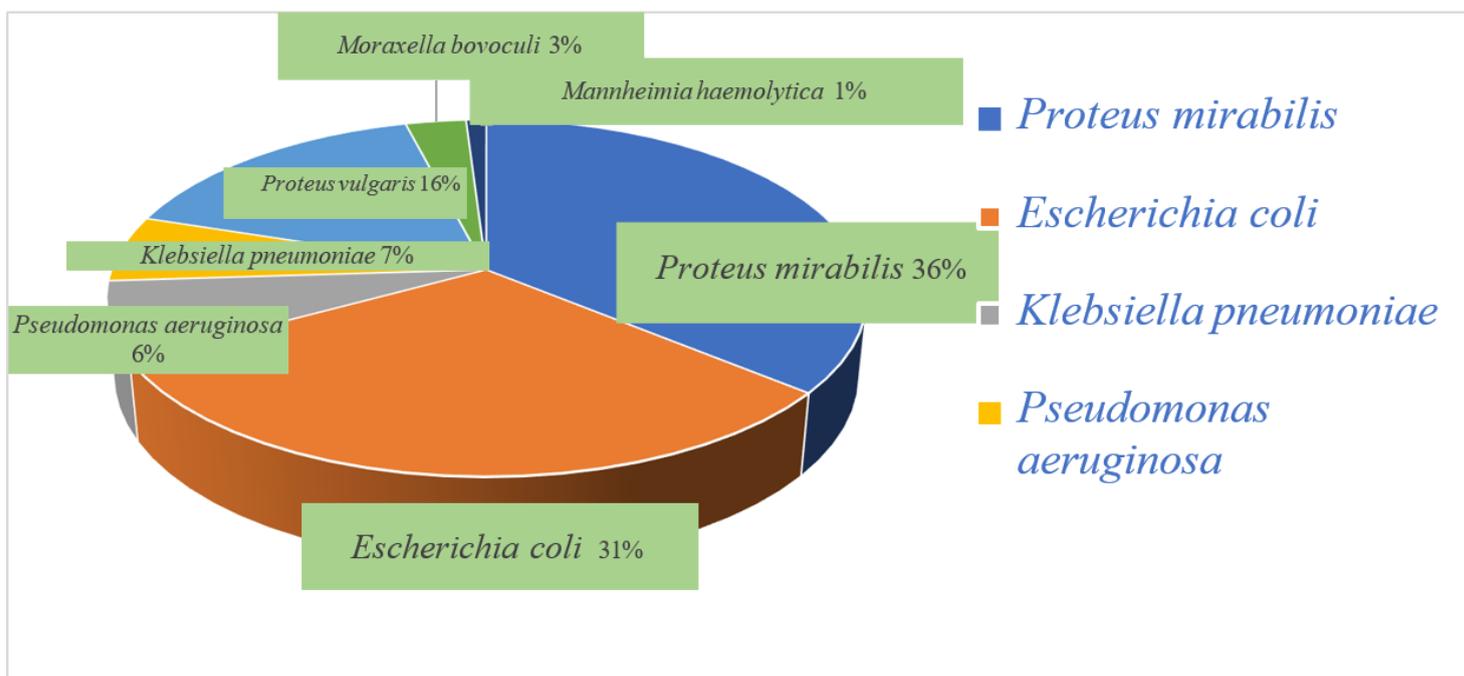


Рисунок 2 – Процентное (%) отношение выделенных из носоглоточной слизи телят изолятов

У больных животных исходя из полученных данных среди возбудителей грамотрицательные микробы достигают 68,3%, грамположительные – 31,7%.

Анализ биологических свойств изолированных микроорганизмов

Среди изолированных возбудителей бронхопневмонии крупного рогатого скота наибольший интерес представляют следующие микробы: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mannheimia haemolytica*, *Moraxella bovoculi*. Биологические характеристики данных возбудителей были детально проанализированы и представлены в таблицах (табл. 1).

При интраназальном заражении *Escherichia coli* для оценки вирулентности зарегистрировали гибель 45,5% мышей, *Pseudomonas aeruginosa* – 81,8%, *Mannheimia haemolytica* – 36,4%, *Moraxella bovoculi* – 54,5%, *Proteus vulgaris* – 63,6%, *Proteus mirabilis* – 72,7%, *Klebsiella pneumoniae* – 100%.

Для оценки вирулентности *Klebsiella pneumoniae* применили интраназальное инфицирование белых мышей (n=11) смывом суточной агаровой культуры. LD50 составило 10^3 КОЕ, что указывает на вирулентность.

Таблица 1 – Биохимические свойства изолятов, выделенных от телят с бронхопневмонией

Наименование микроорганизма	Показатели									
	Пигментообразование	Каталаза	Оксидаза	ОНРГ	Восстановление метилового красного	УР	H ₂ S	Индол	Гидролиз из	Фенилаланиндезаминаза
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	«-»	«+»	«-»	«+»	«-»	«+»	«-»	«-»	«+»	«-»
<i>Escherichia coli</i>	«-»	«+»	«-»	«+»	«+»	«-»	«-»	«+»	«-»	«-»
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	«+»	«+»	«+»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»
<i>Proteus vulgaris</i>	«-»	«+»	«-»	«-»	«+»	«+»	«+»	«+»	«+»	«+»
<i>Proteus mirabilis</i>	«-»	«+»	«-»	«-»	«-»	«-»	«+»	«-»	«+»	«+»
<i>Mannheimia haemolytica</i>	«-»	«+»	«+»	«+»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»
<i>Moraxella bovoculi</i>	«-»	«-»	«+»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»	«-»

Таблица 2 – Частота (%) выявления биоплёнки изолированных возбудителей бронхопневмонии

Микроорганизм	Биоплёнкообразование (%)
<i>Escherichia coli</i>	61,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100
<i>Proteus mirabilis</i>	75,4
<i>Proteus vulgaris</i>	68,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	90,2
<i>Moraxella bovoculi</i>	100
<i>Mannheimia haemolytica</i>	48,4

Можно отметить, что изоляты демонстрируют не одинаковую тенденцию к биоплёнкообразованию, наибольшая тенденция к образованию биоплёнки наблюдается у *Klebsiella pneumoniae*.

Таблица 3 – интенсивность биоплёнкообразования микроорганизмов, изолированных от телят с признаками бронхопневмонии до внесения коллоидного серебра и после внесения коллоидного серебра

Микроорганизм	Время инкубирования (ч)	Значение OD без внесения серебра	Значение OD при внесении серебра
<i>Escherichia coli</i>	72	0,46±0,03*	0,16±0,05*
<i>Proteus mirabilis</i>	72	0,71±0,09*	0,22±0,03*
<i>Proteus vulgaris</i>	72	0,65±0,01*	0,14±0,07*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	72	0,54±0,05*	0,17±0,01*
<i>Moraxella bovoculi</i>	72	0,27±0,01*	0,03±0,08*
<i>Mannheimia haemolytica</i>	72	0,22±0,06*	0,01±0,01*

* достоверность $P \leq 0,05$

Экспериментально показано снижение тенденции к образованию биоплёнок и других возбудителей бронхопневмонии при внесении коллоидного серебра (табл.3). в объёме 100 мкл серебра.

Чувствительность возбудителей бронхопневмонии телят к антибиотикам

В ходе проведённых исследований нами установлена чувствительность выделенных от телят животноводческих комплексов Ленинградской области возбудителей бронхопневмонии (рис.3). Результаты доказывают недостаточную эффективность проводимых лечебных мероприятий с применением только антибактериальных препаратов, что связано с резистентностью ряда возбудителей бронхопневмонии.

Изоляты проявили различную чувствительность *in vitro*. Значительная доля изолятов *Escherichia coli* (n=30) проявила резистентность к амоксицилину (R =100%), ампициллину (R =100%), цефтазидину (R =93,3%), цефтиофуру (R =86,7%), гентамицину (R =100%), офлоксацину (R =100%), левофлоксацину (R =90%), тетрациклину (R =100%) и оказались резистентны к бензилпенициллину (R=100%), немицину (R=100%) и доксициклину (R=100%).

Изоляты *Klebsiella pneumoniae* (n=7) проявили полирезистентность по отношению к АМП (R=100%): амоксициллину, ампициллину, цефтазидину, цефтиофуру, гентамицину, офлоксацину, левофлоксацину, тетрациклину бензилпенициллину и доксициклину.

Различную чувствительность продемонстрировали изоляты *Pseudomonas aeruginosa* (n=5). *Pseudomonas aeruginosa* оказалась резистентна (R=100%) к ампициллину и цефтазидину. Изоляты проявили резистентность так же к АМП: бензилпенициллин (R =90%), амоксициллину (R =100%), цефтиофуру (R =100%), гентамицину (R =100%), офлоксацину (R =100%) и левофлоксацину (R =100%).

Значительная часть изолятов *Proteus mirabilis* (n=25) оказалась резистентна к бензилпенициллину (R=100%), амоксициллину (R=86,7%), цефтазидину (R=100%), левофлоксацину (R=93,3%), доксициклину (R=100%) и тетрациклину (R=100%).

У изолятов *Proteus vulgaris* (n=20) отметили резистентность к бензилпенициллину (R=100%), цефтиофуру (R=80%), доксициклину (R=100%) и тетрациклину (R=100%).

Moraxella bovoculi и *Mannheimia haemolytica* продемонстрировали значительную (S =70,5-100%) чувствительность ко всем тестируемым АМП.



Рисунок 3 – Соотношение (%) изолятов резистентных к антибиотикам

Выделение бактериофагов из окружающей среды животноводческих комплексов и результаты оценки литической активности коммерческих и выделенных из сточных вод животноводческих комплексов бактериофагов

Коммерческие препараты бактериофагов характеризуются различной литической активностью, что актуализирует поиск фагов с высокой литической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным микробам. Выделенный бактериофаг демонстрирует выраженную литическую активность в отношении *Klebsiella pneumoniae* (табл. 4,5).

Таблица 4 – Литическая активность выделенного бактериофага при применении метода Грациа

Тест-штамм	Концентрация бактериофага, БОЕ/мл
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №1	$3,95 \times 10^5 \pm 0,76^*$
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №2	$3,73 \times 10^5 \pm 0,53^*$
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №3	$3,84 \times 10^5 \pm 0,82^*$

*достоверность $P \leq 0,05$

Таблица 5 - Спектр литической активности выделенного бактериофага в отношении бактериальных культур, изолированных из носоглоточной слизи телят при применении метода «spot-test»

Тест-штамм	Литическая активность
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №1	«++++»
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №2	«+++»
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №3	«++++»

При анализе морфологии негативных колоний фагов их делили на 5 групп, оценивая размер и форму негативных колоний, прозрачность, наличие зон вторичного роста микробов вокруг негативных колоний (Е.А. Бульканова, 2006) (табл.6).

Таблица 6 – Морфология негативных колоний выделенного бактериофага

Индикаторный микроб	Морфология негативных колоний до пассаживания	Тип негативных колоний до пассаживания	Морфология негативных колоний после пассаживания	Тип негативных колоний после пассаживания
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №1	Мутные негативные колонии округлой формы с выраженным вторичным ростом бактерий в центре и ореолом по периферии, 7,5-8,0 мм в диаметре	IV	Прозрачные негативные колонии округлой формы с ровными краями и ореолом по периферии, 2,0-3,0 мм в диаметре	V
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №2	Прозрачные негативные полиморфные колонии с выраженным вторичным ростом бактерий в центре и ореолом по периферии, 6,5-8,5 мм в диаметре	IV	Прозрачные негативные колонии округлой формы с ровными краями и ореолом по периферии, 2,5-3,0 мм в диаметре	V
<i>Klebsiella pneumoniae</i> №3	Прозрачные негативные колонии округлой формы, 1,0-1,5 мм в диаметре	I	Прозрачные негативные колонии округлой формы 3,0- 4,0 мм в диаметре, отсутствие вторичного роста	II

Результаты ингаляции инфицированных *Klebsiella pneumoniae* лабораторных мышей коммерческими и выделенными из сточных вод животноводческих комплексов бактериофагами

При оценке эффективности ингаляционной фаготерапии на мышах применили три коммерческих препарата (Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный, Выделенный фаголизат рооявил более выраженную литическую активность *in vitro* по сравнению с Пиобактериофагом поливалентным очищенным (Пиобактериофаг комплексный)).

Эффективность выделенного бактериофага оценивали путём ингаляционного и интраназального введения лабораторным мышам. Мышей разделяли на три группы при оценке эффективности каждого препарата или фаголизата (1 - животные, подвергшиеся заражению и проходящие курс введения бактериофага (n=3), 2- животные, подвергшиеся заражению и не проходившие терапию (n=3), 3- контрольная группа животных, не подвергшихся заражению (n=3)).

Ингаляцию проводили с применением компрессорного четырёхрежимного ингалятора Неб-Эйд (Flaem Nuova, Италия). Использовали распылитель «Рапидфлаем 2» в режиме I (размер частиц 0,8-2,0 μm). После каждой ингаляции распылитель подвергали дезинфекции, промывке и просушке при температуре 25 °С.

Ингаляцию проводили в течении 3 дней, три раза в сутки (интервал не более 6 часов). На каждую ингаляцию затрачивали 5,0 мл фаголизата. Контроль за всеми группами животных осуществляли на протяжении 10 суток, оценивая ряд показателей: жизнеспособность, активность, аппетит, состояние шёрстного покрова, наличие хрипов и кашля.

Интраназальное введение фаголизата осуществляли на протяжении трёх дней. Три раза в сутки мышам вводили 50 мкл исследуемого бактериофага в каждое носовое отверстие с помощью микропипетки. Контроль за всеми группами животных осуществляли на протяжении 3 дня, оценивая ряд показателей: жизнеспособность, активность, аппетит, состояние шёрстного покрова, наличие хрипов и кашля.

Среди заражённых животных, не проходящих курс фаготерапии, была отмечена гибель через 24-48 ч. В тканях лёгких и в крови сердца павших мышей обнаружена *Klebsiella pneumoniae*. У заражённых животных, проходящих курс фаготерапии, группы на протяжении всего курса лечения не было отмечено патологических изменений.

Разработка и применение схемы для интраназального введения бактериофагов на телятах

Была разработана следующая схема интраназального применения бактериофагов при бронхопневмонии у телят в условиях животноводческого комплекса (рис.4):

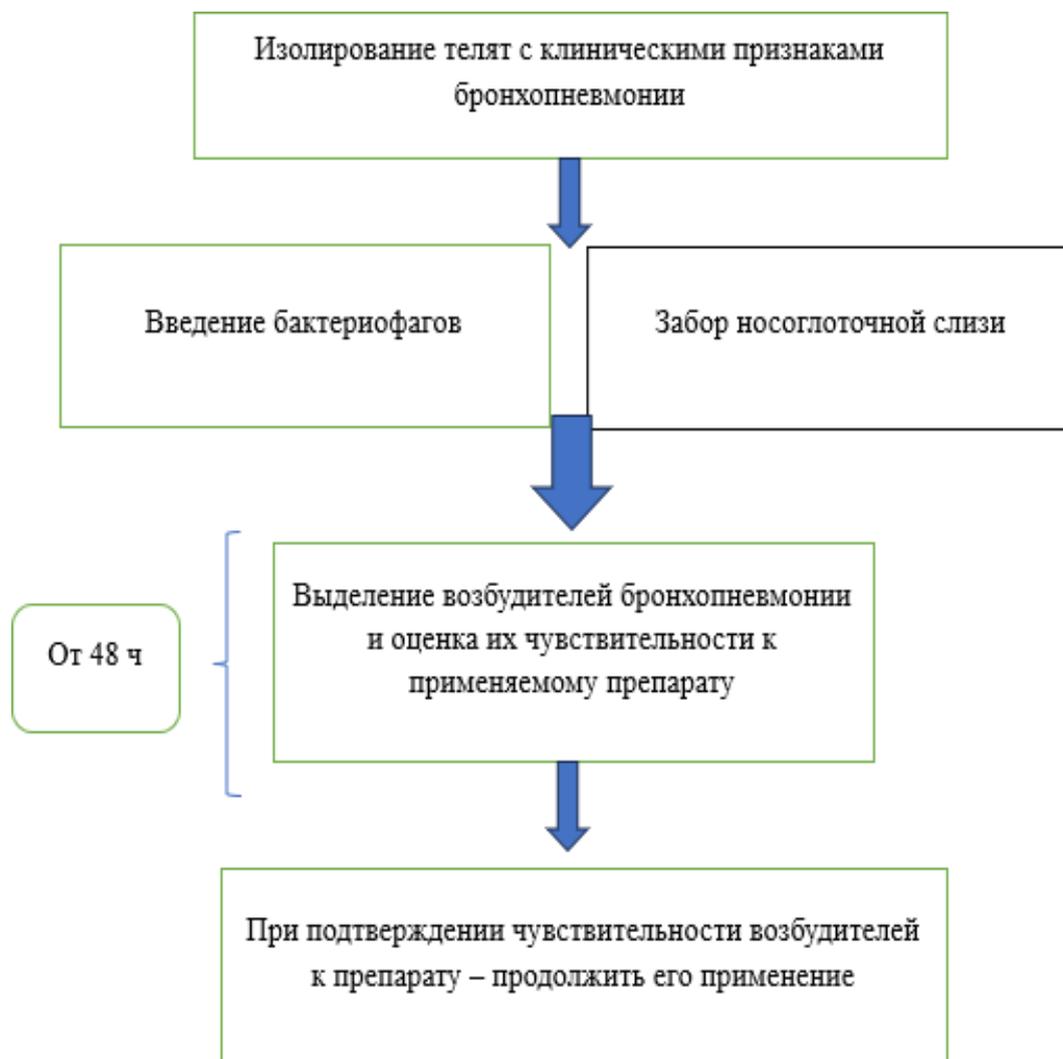


Рисунок 6 –Интраназальное применение фаголизата

Вводили интраназально 3,0 мл препарата в каждое носовое отверстие три раза в сутки в течение трёх дней.

Экономическая эффективность применения фаготерапии при бронхопневмонии телят в условиях животноводческого комплекса

Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат, потраченных на лечение телят при бактериальной бронхопневмонии составила 8,1 руб (при монотерапии) и 5,8 рубля (при применении комплекса бактериофага с коллоидным серебром), что говорит о том, что фаготерапия экономически выгодна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мясное и молочное скотоводство играют ключевую роль в сельскохозяйственной экономике и продовольственной безопасности. В условиях глобального роста населения и увеличения спроса на продукты питания, стабильное производство мясной и молочной продукции становится критически важным для обеспечения продовольственной безопасности. Можно сказать, что

скотоводство является объектом интенсивных научных исследований, направленных на улучшение продуктивности, здоровья животных и качества продукции. Совершенствование существующих и разработка новых схем лечения и профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота способствует повышению эффективности скотоводства.

По результатам исследований сделаны следующие **выводы**:

1. Проведён мониторинг эпизоотического состояния животноводческих комплексов Ленинградской области, который показал, что бронхопневмония инфекционной этиологии занимает существенное место среди болезней крупного рогатого скота (15-20 %).
2. Бронхопневмония бактериальной этиологии у телят в животноводческих комплексах Ленинградской области в 16,21% случаев вызвана *Proteus mirabilis*, 11,89% – *Escherichia coli*, 5,95% – *Klebsiella pneumoniae*, 3,24% – *Moraxella bovoculi*, 1,62% – *Mannheimia haemolytica*;
3. Установлено, что 100% изолятов *Klebsiella pneumoniae* полирезистентны и проявляют значительное биоплёнообразование; при определении чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам установлено, что 65,3% исследованных микроорганизмов были устойчивы к 2 – 6 фармакологическим группам АМП, из них к трём группам АМП было устойчиво 7,0% штаммов.
4. Выделенный из сточных вод животноводческих комплексов бактериофаг, обладает высокой специфичностью к *Klebsiella pneumoniae* и выраженной литической активностью ($9,6 \times 10^5 \pm 0,131$ БОЕ/мл) в отношении бактериальных культур; литическая активность выделенного бактериофага в отношении бактериальных культур, при применении метода «spot-test» составила «++++».
5. Применение комплекса бактериофага с коллоидным серебром способствует ингибированию биоплёнки;
6. Применение бактериофага в комплексе с коллоидным серебром телятам интраназально в дозе 3,0 мл в каждое носовое отверстие, курсом 3 дня эффективно при бактериальной бронхопневмонии.
7. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат, потраченных на лечение телят с бактериальной бронхопневмонией с применением бактериофага составила 8,1 руб. (>1,0), с применением комплекса бактериофага с коллоидным серебром –5,8 руб.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ

1. Выделенный из сточных вод животноводческих комплексов, бактериофаг эффективен при лечении телят с бактериальной бронхопневмонией.
2. Добавление коллоидного серебра к бактериофагу повышает эффективность лечения телят с бактериальной бронхопневмонией.
3. Применение бактериофага в комплексе с коллоидным серебром телятам интраназально в дозе 3,0 мл в каждое носовое отверстие, курсом 3 дня эффективно при бактериальной бронхопневмонии.

4. При применении бактериофага в комплексе с коллоидным серебром экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат, потраченных на лечение телят с бактериальной бронхопневмонией составляет 5,8 руб.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Дальнейшие исследования по данной тематике должны быть направлены на совершенствование схем применения бактериофагов и их комбинаций с другими препаратами для лечения и профилактики бронхопневмонии молодняка крупного рогатого скота в условиях животноводческих комплексов.

Полученные результаты позволят подобрать оптимальный фагосодержащий препарат для внедрения в схему животноводческих комплексов Российской Федерации, ограничить распространение резистентности эпизоотологически и эпидемически значимых социально опасных микроорганизмов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, внесённых в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации

1. Киянчук, М. В. Особенности выделения бактериофагов, специфичных к *Klebsiella pneumoniae*, из сточных вод животноводческих комплексов / М. В. Киянчук, А. А. Сухинин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 37-40. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2025.1.37. – EDN KGPLCK.

2. Киянчук, М. В. Оценка литической активности коммерческих препаратов бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae*, ассоциированной с бронхопневмонией крупного рогатого скота / М. В. Киянчук, А. А. Сухинин // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 20-25. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.4.20. – EDN ZLSIJI.

3. Киянчук, М. В. Оценка эффективности ингаляционного применения препаратов бактериофагов при бронхопневмонии, ассоциированной с *Klebsiella pneumoniae* / М. В. Киянчук, А. А. Сухинин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 31-33. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2024.3.31. – EDN VZHEML.

4. Киянчук, М. В. Мониторинг антибиотикорезистентности возбудителей бронхопневмонии молодняка крупного рогатого скота / М. В. Киянчук, А. А. Сухинин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2025. – № 2. – С. 55-60. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2025.2.55. – EDN DXCMNS.

5. Киянчук, М. В. Анализ микробиоты носоглоточной слизи, ассоциированной с бронхопневмонией крупного рогатого скота в животноводческих комплексах / М.

В. Киянчук, А. А. Сухинин // Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 58-67. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.58. – EDN SUZUFT.

6. Киянчук, М. В. Оценка эффективности коллоидного серебра для ингибирования образования биоплёнки у возбудителей бронхопневмонии телят / М. В. Киянчук, М.С. Борисова, А. А. Сухинин // Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 3. – С. 63-71. – DOI doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.3.

Статьи, опубликованные в сборниках научных трудов и материалах конференций:

1. Киянчук, М. В. Анализ биохимических, культуральных и морфологических свойств *mannheimia haemolytica*, выделенной из носоглоточной слизи телят / М. В. Киянчук // Ветеринарная лабораторная практика: Сборник статей и докладов на международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 17–21 апреля 2023 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, ВВМ, 2023. – С. 29-31. – EDN QMFZUC.

2. Киянчук, М. В. Актуальность фаготерапии в животноводстве / М. В. Киянчук, А. А. Сухинин // Ветеринарная лабораторная практика: международная научно-практическая конференция, Санкт-Петербург, 27–28 февраля 2025 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, ООО "Издательство ВВМ", 2025. – С. 92-94. – EDN XDEUCF.

3. Kiyanchuk, M. V. Bacteriophage ISOLATION FOR THE TREATMENT OF PULMONARY DISEASES OF CATTLE / M. V. Kiyanchuk, A. A. Sukhinin //, 24–25 ноября 2022 года, 2022. – P. 491-492. – EDN IFEVZG.