

# Бактериофаговый коктейль против *Corynebacterium pseudotuberculosis*: биотехнологический дизайн и эффективность

Хасан Абдулвахаб М.Д., Алмуслимави, Н.В.Пименов

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И.Скрябина», Москва, Российская Федерация

Разработана биотехнология получения трехвалентного коктейля бактериофагов (vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1, vB\_CpsM\_E3), нацеленного на клинические штаммы *Corynebacterium pseudotuberculosis*, вызывающие казеозный лимфаденит у овец и коз. После очистки методом осаждения полиэтиленгликолем и ультрацентрифугирования в градиенте хлорида цезия у исследованных фагов были выявлены переменные кинетические параметры адсорбции ( $K_0 = 1,64–6,24 \cdot 10^{-8}$  мл/мин) и латентные периоды (30–40 мин), а также выраженная литическая активность (минимальное ингибирующее разведение – 1:256). В моделях на мышах коктейль обеспечил 75%-ю выживаемость при низкой бактериальной нагрузке ( $6 \cdot 10^4$  КОЕ/мл), но при более высокой нагрузке патогена его эффективность снижалась. Безопасность подтверждена валированными протоколами стерильности, уровнем эндотоксина ниже порога обнаружения ( $<0,015$  ЕЭ/мл) и отсутствием аномальной токсичности (0% смертности). Данная биотехнологически оптимизированная форма демонстрирует значительный потенциал в качестве таргетного терапевтического средства против казеозного лимфаденита.

**Ключевые слова:** *Corynebacterium pseudotuberculosis*, бактериофаг, миовирус, казеозный лимфаденит

**Для цитирования:** Алмуслимави Хасан Абдулвахаб М.Д., Пименов Н.В. Бактериофаговый коктейль против *Corynebacterium pseudotuberculosis*: биотехнологический дизайн и эффективность. Бактериология. 2025; 10(4): 84–89. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-4-84-89

## Bacteriophage cocktail against *Corynebacterium pseudotuberculosis*: biotechnological design and efficacy

Hasan Abdulwahab M.D., Almuslimawi, N.V.Pimenov

K.I.Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA, Moscow, Russian Federation

A trivalent bacteriophage cocktail (vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1, vB\_CpsM\_E3) targeting clinical strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* causing caseous lymphadenitis in sheep and goats was biotechnologically developed. After purification by polyethylene glycol precipitation and cesium chloride gradient ultracentrifugation, we revealed variable adsorption kinetic parameters ( $K_0 = 1.64–6.24 \cdot 10^{-8}$  mL/min) and latent periods (30–40 min), as well as pronounced lytic activity (minimum inhibitory dilution 1:256). In mouse models, the cocktail achieved 75% survival at low bacterial loads ( $6 \cdot 10^4$  CFU/mL), although its efficacy decreased at higher pathogen loads. Safety was confirmed by validated sterility protocols, endotoxin levels below the detection limit ( $<0.015$  EU/mL), and the absence of abnormal toxicity (0% mortality). This biotechnologically optimized formulation demonstrates significant potential as a targeted therapeutic agent for caseous lymphadenitis.

**Key words:** *Corynebacterium pseudotuberculosis*, bacteriophage, myovirus, caseous lymphadenitis

**For citation:** Almuslimawi Hasan Abdulwahab M.D., Pimenov N.V. Bacteriophage cocktail against *Corynebacterium pseudotuberculosis*: biotechnological design and efficacy. Bacteriology. 2025; 10(4): 84–89. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-4-84-89

### Для корреспонденции:

Алмуслимави Хасан Абдулвахаб М.Д., аспирант кафедры иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И.Скрябина»

Адрес: 109472, Москва, ул. Акад. Скрябина, 23  
E-mail: hassan91zh@yahoo.co.uk  
ORCID: 0000-0001-7852-6617

Статья поступила 08.07.2025, принята к печати 25.12.2025

### For correspondence:

Hasan Abdulwahab M.J. Almuslimawi, PhD Student, Department of Immunology and Biotechnology, K.I.Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA

Address: 23 Academician Skryabin str., Moscow, 109472, Russian Federation  
E-mail: hassan91zh@yahoo.co.uk  
ORCID: 0000-0001-7852-6617

The article was received 08.07.2025, accepted for publication 25.12.2025

**К**азеозный лимфаденит – хроническое инфекционное заболевание, наносящее значительный экономический ущерб отрасли жвачных животных во всем мире, возбудителем которого является *Corynebacterium pseudotuberculosis* [1, 2]. Традиционная антибиотикотерапия имеет ограничения из-за образования биопленок, внутриклеточной персистенции бактерий и роста антимикробной резистентности. Перспективной альтернативой является бактериофаговая терапия, использующая способность специфичных вирусов лизировать патогенные бактерии [3, 4]. В данной работе описана биотехнологическая разработка коктейля бактериофагов, нацеленного на *C. pseudotuberculosis*, и оценены его стабильность, кинетика адсорбции, методы очистки, а также эффективность *in vivo* на моделях мышей.

**Цель исследования** – биотехнологическая разработка и доклиническая оценка эффективности трехвалентного бактериофагового коктейля против *C. pseudotuberculosis*.

### Материалы и методы

Терапевтический бактериофаговый коктейль был разработан на основе трех изолятов (vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1 и vB\_CpsM\_E3), проявляющих специфичность в отношении *C. pseudotuberculosis*. Для производства бактериофагов использовали клинические изоляты *C. pseudotuberculosis* (штаммы 1463, 826 и 1089). Как бактериофаги, так и бактериальные штаммы были получены из НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского.

#### Сбор и концентрирование бактериофагов

Исходная суспензия каждого бактериофага (титр  $10^7$  БОЕ/мл) была подвергнута последовательному разведению до  $10^3$  и  $10^4$ . Каждое разведение (100 мкл) смешивали со 100 мкл ночной культуры *C. pseudotuberculosis* и инкубировали при температуре 30°C в течение 10 мин для адсорбции. Затем адсорбционные смеси переносили в пробирки, содержащие 2 мл расплавленного верхнего агара (0,6% агарозы, 5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 10 мМ MgSO<sub>4</sub>; Helicon, Россия) тщательно перемешивали и немедленно наливали поверх подготовленных чашек с основным агаром. После 30-минутного периода застывания чашки инкубировали ночь при 30°C. Данную процедуру посева повторяли на 20 чашках для наработки достаточного количества фага.

Лизат с 20 полностью лизированных чашек собирали, добавляя по 4 мл фагового буфера на чашку и инкубируя

ночь при 4°C. Лизат сливали путем наклона чашек, добавляли NaCl (до конечной концентрации 0,6 М) и центрифугировали (11 000 g, 10 мин, 4°C) для осаждения дебриса. Фаги в надосадочной жидкости концентрировали путем добавления полиэтиленгликоля PEG 6000 (Sigma-Aldrich, США) до конечной концентрации 10%, осаждения в течение ночи при 4°C и центрифугирования в тех же условиях. Полученный осадок ресуспендировали в 1/10 исходного объема буфера, инкубировали 1 ч, затем смешивали с равным объемом водонасыщенного хлороформа. После встряхивания на вортексе (30 с) и разделения фаз центрифугированием (1600 g, 15 мин, 4°C) водную фазу восстанавливали и хранили при 4°C.

#### Очистка бактериофагов

Ступенчатый градиент готовили в 30-миллиметровых прозрачных центрифужных пробирках для ротора Beckman SW41 (Beckman Coulter, США) путем последовательного наслаивания растворов CsCl с постепенно снижающейся плотностью: 2 мл ( $\rho = 1,70$  г/мл), 3 мл ( $\rho = 1,50$  г/мл), 3 мл ( $\rho = 1,40$  г/мл), 3 мл ( $\rho = 1,20$  г/мл), 3 мл ( $\rho = 1,10$  г/мл) и 5 мл ( $\rho = 0,70$  г/мл), после чего на градиент аккуратно наносили 5 мл суспензии бактериофагов. Центрифугирование проводили при 22 000 об./мин (82 000 g) в течение 4 ч при 4°C, после чего визуализировали голубоватую полосу фаговых частиц на границе слоев с плотностями 1,20 и 1,10 г/мл, которую осторожно отбирали стерильной иглой с шприцем для последующего анализа.

#### Диализ

Очищенную фаговую фракцию загружали в диализную трубку (порог отсечки 12–14 кДа) и проводили диализ против SM-буфера при 4°C с медленным перемешиванием. Буфер заменяли 2–3 раза в течение 12–24 ч. После диализа фаговую суспензию собирали и хранили при +4°C или при -80°C с добавлением 10% глицерина.

#### Электронная микроскопия

Морфологию бактериофагов исследовали методом электронной микроскопии на кафедре вирусологии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова. Для электронно-микроскопического анализа использовали концентрированные препараты бактериофагов. Наблюдения выполняли на электронном микроскопе JEOL-100 S при ускоряющем напряжении 80 кВ с применением метода негативного контрастирования 2%-м водным раствором уранила ацетата. Инструментальное увеличение составляло  $\times 53\,018$ , фотографическое –  $\times 25\text{--}80$ .

#### Контроль качества биопрепарата

Стерильность тестировали посевом в питательный бульон, тиогликолевую среду, GMP-агар и ВНИ-агар в аэробных и анаэробных условиях [5, 6]. Уровень эндотоксинов определяли с помощью LAL-теста (Limulus Amebocyte Lysate) с чувствительностью 0,015 ЕЭ/мл (Charles River Endosafe™, Charles River, США) [5, 6]. Аномальную токсичность определяли в соответствии с ОФС.1.2.4.0004.15, внутрибрюшинно вводя 0,5 см<sup>3</sup> препарата мышам массой 18–22 г ( $n = 10$ ) [7].

#### Оценка литической активности

Минимальное ингибирующее разведение (МИР) фагового коктейля определяли методом серийных двукратных разведений (от 1:2 до 1:1024) с инкубацией с целевыми бактериальными культурами.

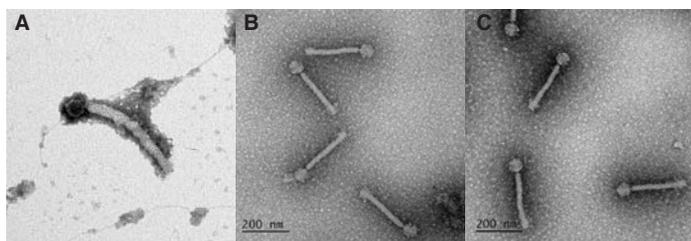


Рис. 1. Электронная микрофотография частиц бактериофага: А) vB\_CpsM\_H, В) vB\_CpsM\_M1, С) vB\_CpsM\_E3. Масштабная линейка 0,5 мкм. Стрелками показаны икосаэдрическая головка и сократительный хвост.

Fig. 1. Electron micrograph of bacteriophage particles (A) vB\_CpsM\_H, (B) vB\_CpsM\_M1, (C) vB\_CpsM\_E3. Scale bar 0.5  $\mu\text{m}$ . Arrows indicate the icosahedral head and contractile tail.

Таблица 1. Биологические свойства бактериофагов vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1, vB\_CpsM\_E3  
 Table 1. Biological properties of bacteriophages vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1, vB\_CpsM\_E3

Штамм бактериофага / Bacteriophage strain	vB_CpsM_H	vB_CpsM_M1	vB_CpsM_E3
Клетка-хозяин / Host cell	<i>C. pseudotuberculosis</i> 1463	<i>C. pseudotuberculosis</i> 826	<i>C. pseudotuberculosis</i> 1089
Семейство фагов по данным электронного микроскопа / Phage family according to electron microscopy data	Миовирус / Myovirus	Миовирус / Myovirus	Миовирус / Myovirus
Морфотип / Morphotype	A1	A1	A1
Диаметр головки, нм / Head diameter, nm	50,3 ± 5,7	56,7 ± 4,2	54,3 ± 5,3
Ширина хвоста, нм / Tail width, nm	25,1 ± 2,1	23,2 ± 1,6	22,8 ± 2,7
Длина хвоста, нм / Tail length, nm	243,4 ± 14,3	227,1 ± 11,3	224,3 ± 8,3
Литическая активность по Аппельману, степень разведения / Lytic activity according to Appelman, dilution rate	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>
Литическая активность по Грациа, БОЕ/см <sup>3</sup> / Lytic activity according to Grazia, PFU/cm <sup>3</sup>	3·10 <sup>8</sup>	8·10 <sup>6</sup>	6·10 <sup>7</sup>
Литический спектр ( <i>C. pseudotuberculosis</i> ) / Lytic spectrum ( <i>C. pseudotuberculosis</i> )	92%	88%	84%
Константа скорости адсорбции фаг-клетка, мл/мин / Phage-cell adsorption rate constant, mL/min	3,81·10 <sup>-8</sup>	6,24·10 <sup>-8</sup>	1,64·10 <sup>-8</sup>
Латентный период, мин / Latent period, min	40	30	35

#### Эффективность *in vivo*

Мышей линии BALB/c инфицировали внутрибрюшинно различными дозами *C. pseudotuberculosis* (6·10<sup>4</sup>, 6·10<sup>5</sup> и 6·10<sup>6</sup> КОЕ/мл). Через 1 ч животные получали фаговый коктейль (200 мкл, 3,3·10<sup>8</sup> БОЕ/мл, внутрибрюшинно). Выживаемость отслеживали в течение 7 дней.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Морфология всех трех выделенных бактериофагов была изучена с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Все изоляты имели морфотип, характерный для вирусов, ранее относимых к семейству миовирусов (морфотип A1): икосаэдральную головку и длинный сократимый хвост (рис. 1). Результаты морфометрического анализа представлены в табл. 1.

Нами был разработан терапевтический биопрепарат, состав которого приведен в табл. 1, путем целенаправленного отбора и выделения бактериофагов. Основой для создания данной формулы послужили: установленная роль *C. pseudotuberculosis* как основного возбудителя казеозного лимфаденита у жвачных животных, а также тщательный отбор вирулентных коллекционных бактериофагов, обладающих оптимальными терапевтическими свойствами. Отобранные фаговые изоляты демонстрируют широкую литическую активность в отношении клинических штаммов *C. pseudotuberculosis*, а также важные фармакодинамические характеристики, включая стабильную литическую активность, высокую адсорбционную способность к клеткам-мишеням, короткий латентный период репликации, значительный выход фагового потомства и выраженную устойчивость к факторам окружающей среды – все эти свойства крайне важны для обеспечения терапевтической эффективности в клинических условиях.

Три бактериофага (vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1, vB\_CpsM\_E3) продемонстрировали существенно различающиеся кинетические профили адсорбции на бактериальных клетках при 37°C, что отразилось в динамике их констант скоро-

сти адсорбции (K<sub>0</sub>). Для фага vB\_CpsM\_H наблюдалось снижение константы скорости адсорбции (K<sub>0</sub>) с 4,65·10<sup>-8</sup> до 3,46·10<sup>-8</sup> мин<sup>-1</sup> в течение 20 мин, что может указывать на насыщение рецепторов или снижение стабильности фаговых частиц. В случае фага vB\_CpsM\_M1 наблюдалась необычная кинетика: после периода с отрицательными значениями K<sub>0</sub> произошел резкий 20-кратный скачок до 2,30·10<sup>-7</sup> мин<sup>-1</sup> к 10-й минуте, что может свидетельствовать об изменении характера связывания фага с клеткой-хозяином или изменении доступности рецепторов как части стратегии выживания бактериальных клеток. Фаг vB\_CpsM\_E3 демонстрировал стабильно низкие показатели адсорбции (в диапазоне 10<sup>-9</sup>-10<sup>-10</sup> мин<sup>-1</sup>) с кратковременным пиком 4,70·10<sup>-8</sup> мин<sup>-1</sup> на 6-й минуте, что указывает на ограниченную совместимость с клеткой-хозяином и эпизодическую доступность сайтов связывания.

Исследуемые фаги демонстрировали различные динамики литического цикла. У vB\_CpsM\_M1 наблюдался наиболее короткий латентный период – 30 мин, при этом полный лизис бактериальной культуры наступал к 80-й минуте. vB\_CpsM\_E3 имел латентный период продолжительностью 35 мин и достигал полного лизиса к 90-й минуте. vB\_CpsM\_H характеризовался самым продолжительным латентным периодом – 40 мин, а полный лизис бактериальной культуры происходил к 100-й минуте. Полученные временные профили подчеркивают различия в эффективности репликации и кинетике взаимодействия с клетками-хозяевами среди исследованных фагов.

Биотехнологический процесс производства, включающий культивирование, концентрирование полиэтиленгликолем, очистку в градиенте CsCl, диализ и контроль качества, позволил получить стандартизированный препарат с высоким титром (>10<sup>9</sup> БОЕ/мл). Препарат соответствовал требованиям стерильности, уровень эндотоксинов был <0,015 ЕЭ/мл, аномальная токсичность отсутствовала (0% смертности в группах мышей). На завершающем этапе проводили фасовку и упаковку готового продукта (рис. 2).

Бактериофаговый коктейль в виде биопрепарата проверяли на стерильность, содержание эндотоксинов и анор-

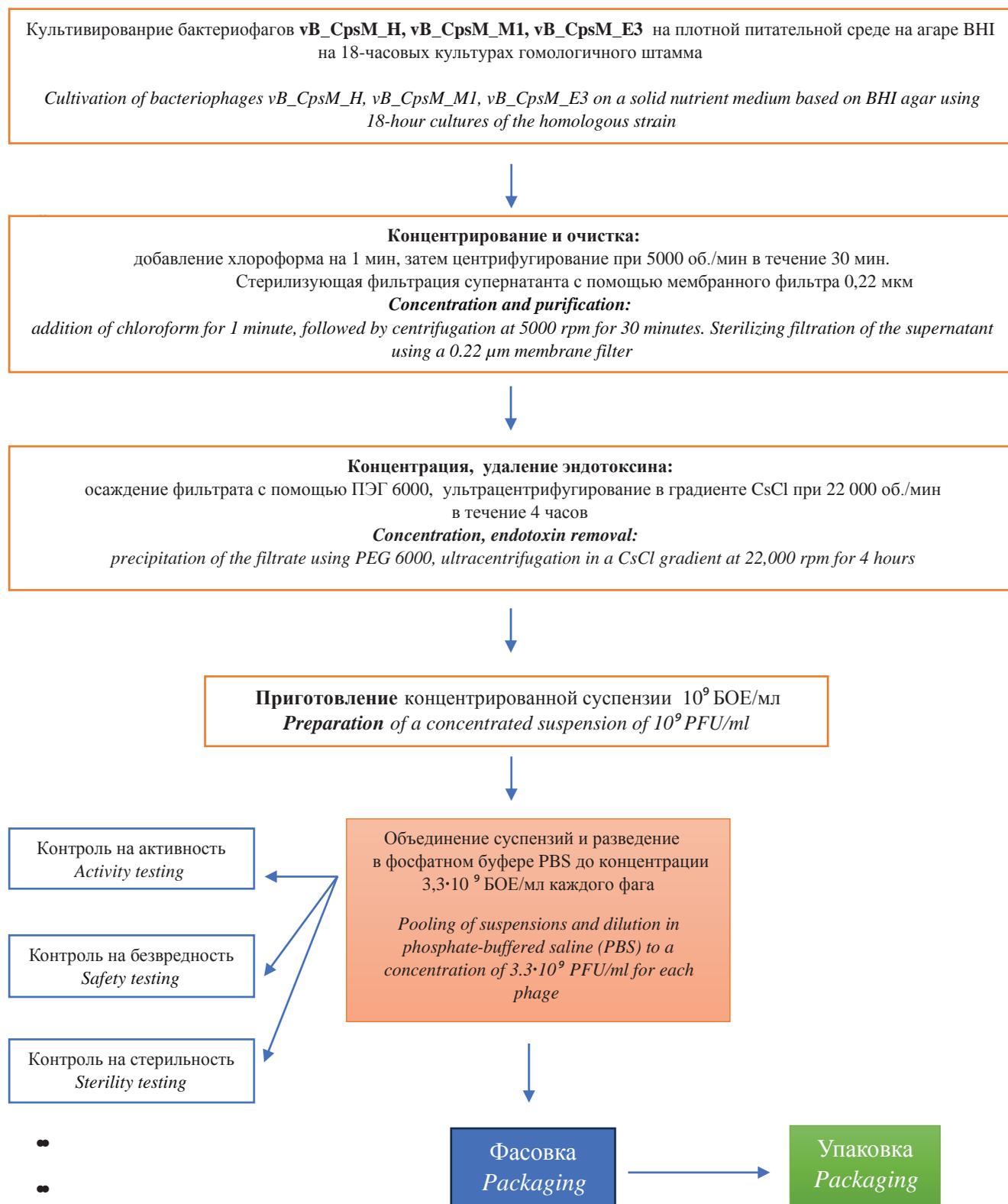


Рис. 2. Схема изготовления трехвалентного бактериофага против казеозного лимфаденита.  
Fig. 2. Scheme to produce a trivalent bacteriophage against caseous lymphadenitis.

мальную токсичность, как указано в разделе «Материалы и методы». В течение всего периода наблюдения на всех инокулированных питательных средах – питательном бульоне, тиогликолевой среде, агаре GSP и агаре ВНИ – в аэробных и анаэробных условиях не наблюдалось роста микроорганизмов. Таким образом, бактериофаговый коктейль соответствовал всем требованиям стерильности.

Поскольку интерпретация результатов качественного гель-тромб-теста зависит от чувствительности применяемого реактива, метод имеет определенные ограничения. В нашем исследовании использовали реактив Charles River Endosafe 20 с чувствительностью 0,015 ЕЭ/мл. Результаты оценивали визуально: образование плотного геля считали положительной реакцией, что указывало на содержание

Таблица 2. Литическая активность (МИР) экспериментального средства «Фаговый коктейль»  
 Table 2. Lytic activity (MID) of the experimental agent Phage cocktail

Тест-культура / Test culture	Повторности / Repetitions	Разведение / Delution										КК	КФ	
		X 2	X 4	X 8	X 16	X 32	X 64	X 128	X 256	X 512	X 1024			
<i>C. pseudotuberculosis</i> 1463	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–
<i>C. pseudotuberculosis</i> 826	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–
<i>C. pseudotuberculosis</i> 1089	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–

«–» – отсутствует рост культуры; «+» – присутствует рост культуры; КК – контроль культуры; КФ – контроль бактериофага.  
 “–” – no culture growth; “+” – culture growth present; CC – culture control; CF – bacteriophage control.

эндотоксинов в образце на уровне или выше порога чувствительности реактива.

При тестировании образцов трех опытных серий биопрепарата положительной реакции не было зафиксировано – гель в пробирках оставался жидким, что подтверждает соответствие допустимым нормам по эндотоксинам.

Полученные результаты позволили перейти к исследованию аномальной токсичности. Аликвоты экспериментальных серий препарата вводили внутривенно белым мышам массой 18–22 г. Для проведения анализа были сформированы 2 группы животных (опытная и контрольная) по 10 особей в каждой для серии исследуемого препарата. Животным контрольной группы внутривенно вводили физиологический раствор в объеме, эквивалентном объему исследуемого препарата (0,5 мл). Исследование аномальной токсичности трех экспериментальных препаратов бактериофагов (vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1, vB\_CpsM\_E3) продемонстрировало удовлетворительный профиль безопасности: в тестовых и контрольных группах не было зарегистрировано случаев гибели животных. На протяжении всего периода наблюдения все животные в опытных группах (получавших препараты бактериофагов) и контрольной группе (получавшей физиологический раствор) оставались здоровыми, без признаков острой токсичности или нежелательных эффектов. Воспроизводимые результаты по всем трем препаратам бактериофагов подтверждают стандартизованность производственного процесса и отсутствие токсичных веществ в конечных продуктах.

Литическая активность биопрепарата для лечения казеозного лимфаденита. Согласно ОФС 1.7.1.0002.15 «Бактериофаги», мы уже проводили и представляли метод Аппельмана, используемый для оценки литической актив-

ности и стабильности лизиса. Для получения точных количественных данных об антибактериальной активности бактериофагов определяли МИР, результаты представлены в табл. 2, 3.

Исследование эффективности фагового коктейля продемонстрировало мощную антибактериальную активность в отношении тестируемых штаммов *C. pseudotuberculosis* 1463, 826 и 1089, с полным подавлением бактериального роста вплоть до разведения 1:256 в большинстве образцов. Возобновление роста наблюдалось при более высоких разведениях (1:512 или 1:1024), что позволило установить МИР на уровне 1:256. Хотя результаты испытаний были достаточно однородными для трех повторностей, отмечались некоторые различия: в случае штамма 1463 два повтора показали ингибирование до 1:1024, тогда как один – только до 1:512; для штамма 1089 два повтора сохраняли ингибирование до 1:256, в то время как один повтор показал рост уже при этом разведении. Контрольные испытания подтвердили достоверность результатов: в культуральных контролях наблюдался ожидаемый бактериальный рост, а в контролях бактериофага была подтверждена стерильность препаратов. Полученные данные свидетельствуют о высокой литической активности препарата против *C. pseudotuberculosis*. Стабильное значение МИР, равное 1:256, в большинстве тестов демонстрирует выраженный антибактериальный потенциал данного препарата бактериофагов.

Литическая активность инновационного фагового коктейля против *C. pseudotuberculosis* в проведенных испытаниях оказалась весьма впечатляющей независимо от введенной концентрации. Начиная с минимальной инфицирующей дозы ( $6 \cdot 10^4$  КОЕ/мл), эффективность фагового коктейля достигала 75%, что наглядно демонстрируется выживаемостью 6 из 8

Таблица 3. Лечебная активность фагового средства ( $3,3 \cdot 10^8$  БОЕ/мл) против *C. pseudotuberculosis*  
 Table 3. Therapeutic activity of the phage agent ( $3.3 \cdot 10^8$  PFU/ml) against *C. pseudotuberculosis*

<i>C. pseudotuberculosis</i> Доза инфицирования, КОЕ/см <sup>3</sup> / <i>C. pseudotuberculosis</i> Infectious dose, CFU/cm <sup>3</sup>	Количество мышей в группе / Number of mice in the group	Летальность / Lethality	Эффективность лечения / Treatment effectiveness
$6 \cdot 10^4$ КОЕ/мл	8	2/8 (25%)	75%
$6 \cdot 10^5$ КОЕ/мл	8	4/8 (50%)	50%
$6 \cdot 10^6$ КОЕ/мл	5	5/5 (100%)	0%

подопытных животных (25% смертности). При средней бактериальной нагрузке ( $6 \cdot 10^5$  КОЕ/мл) эффективность лечения снижалась вдвое. Защитное действие полностью исчезало при максимальной инфицирующей дозе ( $6 \cdot 10^6$  КОЕ/мл), что приводило к 100%-й смертности (5/5 животных). В отрицательной контрольной группе не наблюдалось спонтанной гибели – животные оставались живы на протяжении всего периода исследования. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что терапевтический потенциал фагового коктейля в значительной степени определяется исходной бактериальной нагрузкой, проявляя максимальную эффективность при более низких уровнях инфицирования.

### Заключение

Полученные данные позволили разработать масштабируемую платформу для производства бактериофагового коктейля (vB\_CpsM\_H, vB\_CpsM\_M1, vB\_CpsM\_E3), нацеленного на *C. pseudotuberculosis* и демонстрирующего высокую доклиническую эффективность. Фаги проявляют широкую литическую активность (84–92%), эффективную кинетику адсорбции и короткие литические циклы (80–100 мин). Метод биотехнологического производства обеспечил получение препаратов с высоким титром ( $>10^9$  БОЕ/мл), очищенных от эндотоксинов, что подтверждено стерильностью и отсутствием острой токсичности на моделях мышей. *In vivo* эффективность показала 75% выживаемости при низкой бактериальной нагрузке ( $6 \cdot 10^4$  КОЕ), однако обратная корреляция с патогенной нагрузкой выявила ограничение: эффективность снижалась до 50% при  $6 \cdot 10^5$  КОЕ и полностью исчезала при  $6 \cdot 10^6$  КОЕ. Перспективные исследования должны включать полевые испытания на жвачных животных, изучение синергии фагов с антибиотиками и оптимизацию систем доставки для проникновения в абсцессы, что продвигает данную терапию как жизнеспособную альтернативу антибиотикам для лечения казеозного лимфаденита в ветеринарии.

#### Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

#### Financial support

No financial support has been provided for this work.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

### Литература

1. Алмуслимави ХА, Пименов НВ. Эпизоотология зоопатогенных коринебактерий. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2022;12(2):33-42. DOI: 10.36871/vet.zoo.bio.202212205
2. de Oliveira Zamprogna T, Ribeiro D, Azevedo VAC, Lara GHB, Motta RG, da Silva RC, et al. Bacteriological, cytological, and molecular investigation of

*Corynebacterium pseudotuberculosis*, mycobacteria, and other bacteria in caseous lymphadenitis and healthy lymph nodes of slaughtered sheep. Braz J Microbiol. 2021 Mar;52(1):431-438. DOI: 10.1007/s42770-020-00403-0

3. Алмуслимави ХА, Пименов НВ. Биологические свойства бактериофагов к *Corynebacterium pseudotuberculosis* с селекцией штамма-кандидата для специфического биопрепарата. Ветеринарный врач. 2024;6:50-57. DOI: 10.33632/1998-698X\_2024\_6\_50
4. Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. Bacteriophage. 2011;1(2):111-114. DOI: 10.4161/bact.1.2.14590
5. Карпова МР, Муштоватова ЛС, Бочкарева ОП и др. Методы микробиологического контроля лекарственных средств: учебное пособие. Под ред. Муштоватовой ЛС. Томск: Изд-во СибГМУ, 2017;249.
6. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: учебное пособие. Под ред. Лабинской АС, Блинковой ЛП, Ещиной АС. М.: Медицина, 2004.
7. Общая фармакопейная статья 1.2.4.0004.15 «Аномальная токсичность»: [Электронный ресурс]. Информационный портал о регистрации лекарственных средств в России.

### References

1. Abdulwahhab MD AH, Pimenov NV. Epizootology of zoopathogenic corynebacteria. Veterinary, Zootechnics and Biotechnology. 2022;12(2):33-42. DOI: 10.36871/vet.zoo.bio.202212205 (In Russian).
2. de Oliveira Zamprogna T, Ribeiro D, Azevedo VAC, Lara GHB, Motta RG, da Silva RC, et al. Bacteriological, cytological, and molecular investigation of *Corynebacterium pseudotuberculosis*, mycobacteria, and other bacteria in caseous lymphadenitis and healthy lymph nodes of slaughtered sheep. Braz J Microbiol. 2021 Mar;52(1):431-438. DOI: 10.1007/s42770-020-00403-0
3. Almuslimawi HAMJ, Pimenov NV. Biological properties of bacteriophages to *Corynebacterium pseudotuberculosis* with selection of a candidate strain for a specific biological product. The Veterinarny Vrach journal. 2024;6:50-57. DOI: 10.33632/1998-698X\_2024\_6\_50 (In Russian).
4. Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. Bacteriophage. 2011;1(2):111-114. DOI: 10.4161/bact.1.2.14590
5. Karpova MR, Mushtovatova LS, Bochkareva OP, et al. Metody mikrobiologicheskogo kontrolya lekarstvennykh sredstv: uchebnoe posobie. Pod red. Mushtovatovoi LS. Tomsk: SibGMU Publ., 2017;249. (In Russian).
6. Obshchaya i sanitarnaya mikrobiologiya s tekhnikoi mikrobiologicheskikh issledovaniy: uchebnoe posobie. Pod red. Labinskoi AS, Blinkovoi LP, Eshchinov AS. M.: Meditsina Publ., 2004. (In Russian).
7. Obshchaya farmakopeinaya stat'ya 1.2.4.0004.15 «Anomal'naya toksichnost'»: [Elektronnyi resurs]. Informatsionnyi portal o registratsii lekarstvennykh sredstv v Rossii. (In Russian).

#### Информация о соавторе:

Пименов Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий кафедрой иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И.Скрябина»  
ORCID: 0000-0001-9757-0867

#### Information about co-author:

Nikolay V. Pimenov, PhD, DSc (Biological Sciences), Professor of RAS, Head of the Department of Immunology and Biotechnology, K.I.Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA  
ORCID: 0000-0001-9757-0867