

УДК 636.2:591.2:579.62

ЭНДОЛИЗИН БАКТЕРИОФАГОВ: АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ МАСТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

© 2023 г. Р. Канвар¹, *, М. А. Аслам¹, Х. Зулькурнайн¹,
А. Кадир¹, С. Али¹, С. Наяб¹, С. Мустафа²

¹Институт микробиологии, Университет сельского хозяйства, Фейсалабад, Пакистан

²Факультет зоологии, дикой природы и рыболовства,
Университет сельского хозяйства, Фейсалабад, Пакистан

*e-mail: Rabiakanwar98@gmail.com

Поступила в редакцию 04.09.2022 г.

После доработки 12.01.2023 г.

Принята к публикации 23.01.2023 г.

Мастит является одним из наиболее распространенных заболеваний крупного рогатого скота, которое приводит к существенным экономическим потерям в молочной промышленности. Несмотря на значительный прогресс в контроле и лечении мастита, он по-прежнему встречается достаточно часто. К тому же, употребление молока маститных коров становится источником токсикоинфекций для человека, а появление устойчивых к антибиотикам бактериальных штаммов делает мастит практически неизлечимым. Поэтому существует необходимость в альтернативных подходах к лечению мастита. Один из них — использование эндолизина бактериофагов — рассматривается в предлагаемой статье.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, мастит, множественная лекарственная устойчивость, бактериофаг, эндолизин

DOI: 10.31857/S0042132423030080, **EDN:** QQEBKI

ВВЕДЕНИЕ

Мастит — это воспаление вымени, которое может быть обусловлено физической травмой, раздражающим действием химикатов или инфекцией, вызванной патогеном (Ashraf et al., 2020). Из-за снижения качества молока мастит не только наносит экономический ущерб молочной промышленности, но и приводит к затратам на профилактику и лечение заболевания, а в некоторых случаях — и к выбраковке животных (Bachaya et al., 2011; Jingar et al., 2017; Yadav, 2018). Мастит — многофакторное заболевание, а наличие многочисленных инфекций лишь усложняет его лечение (Abebe et al., 2016).

В зависимости от продолжительности заболевания оно может быть классифицировано как острое или хроническое, а по проявлению симптомов — как клиническое или субклиническое. Обычно клинический мастит проявляется типичными симптомами воспаления в молочных железах, в то время как субклинический мастит практически не проявляется симптоматически и требует более тщательного осмотра вымени и тестирования молока. Из-за неконтролируемого прогрессирования заболевания субклинический мастит мо-

жет привести к более серьезным экономическим потерям, чем клинический (Ijaz et al., 2014), к тому же молоко от таких коров может представлять опасность для здоровья населения (Awandkar et al., 2022).

Из биологических факторов мастит могут вызывать бактерии, микоплазмы, микроскопические водоросли, дрожжевые грибки, вирусы (Sztachañska et al., 2016). Всего обнаружено около 200 различных видов микроорганизмов, вызывающих мастит крупного рогатого скота (Sharun et al., 2021), их воздействие на иммунную систему приводит к воспалению ткани вымени и отрицательно влияет на репродуктивную систему животных (Miles, Huson, 2021). При лекарственной терапии мастита одной из важнейших проблем является устойчивость патогенов к противомикробным препаратам (антибиотикам), которые используются для их лечения (Balemi et al., 2021). В связи с чем эндолизины бактериофагов могут рассматриваться в качестве потенциальной альтернативы антибиотикам (Zduńczyk, Janowski, 2020).

ВОЗБУДИТЕЛИ МАСТИТА

Патогенез таких заболеваний, как мастит, до конца не изучен, поскольку постоянно сообщает-

ся о выявлении новых источников инфекции. Но основной причиной мастита являются бактерии. Бактериальный мастит на сегодняшний день является наиболее частым и опасным видом мастита, как с физиологической, так и с экономической точки зрения (Abdi et al., 2021). Обнаружено, что более 150 видов бактерий вызывают мастит (Sarma, Hussain, 2021), возбудители проникают в ткани молочной железы и при взаимодействии с защитным механизмом организма вызывают субклиническую или клиническую воспалительную реакцию. В большинстве случаев заболевание маститом ассоциировано с *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и дрожжевыми грибами (Holko et al., 2019; El-Sayed, Kamal, 2021; Turk et al., 2021; Kaczorowski et al., 2022), причем *S. aureus* и *E. coli* могут передаваться человеку (Saidani et al., 2018).

Escherichia coli

Кишечная палочка (*E. coli*) становится причиной т. н. экологического мастита. Болезнь поражает молочную железу в начале лактации и при отсутствии лечения может привести к летальному исходу (Burvenich et al., 2003). Прогнозировать мастит, вызванный *E. coli*, можно по стадии лактации, энергетическому балансу животного, дефициту витаминов и отсутствию вакцинации (Zadoks et al., 2011). Когда инфицирование кишечной палочкой находится на низком уровне, у коров проявляются только локальные симптомы в вымени или молоке, которые длятся всего несколько дней. В большинстве случаев бактерии не проникают в альвеолы или ткани молочной железы, а остаются в сосковом канале. В связи с этим существует мнение, что во время воспалительного процесса частое доение можно рассматривать как способ лечения. Напротив, другие авторы отмечают, что инфекция быстро распространяется и перемещается в железистую ткань вымени (Goldstone et al., 2013; Sharifi et al., 2019).

При бактериальном мастите фагоцитоз нейтрофильными клетками является основной клеточной защитой молочной железы. При этом активность нейтрофилов оказывает существенное влияние на число бактерий в вымени, и как следствие, на интенсивность заболевания. Именно поэтому в отличие от других патогенов вакцина против мастита, вызванного *E. coli*, наиболее эффективна (Sebron et al., 2020). Способность утилизировать лактозу и существовать в факультативно-анаэробных условиях является двумя наиболее значимыми факторами, которые ограничивают выживаемость *E. coli* в области вымени. Эндотоксин, вырабатываемый внешней клеточной стенкой этой бактерии играет решающую роль в патогенезе, хотя, как и у большинства грамотрицательных бактерий, эндотоксин как основной вирулентный

фактор косвенно стимулирует активность лейкоцитов (Nagasawa et al., 2019). Рост *E. coli* в сухих молочных железах коровы ограничивается при использовании препаратов железа. В период сухостоя 50% случаев клинического мастита было вызвано *E. coli*. Также хорошее содержание коров в сухостойный период следует рассматривать как важнейший компонент борьбы с маститом (Tančin et al., 2018; Nagasawa et al., 2018; Pillai et al., 2020; Zaatout, 2022).

Klebsiella pneumoniae

Несмотря на то, что *K. pneumoniae* обычно считается патогеном, встречающимся повсеместно в окружающей среде, эта бактерия редко передается от больной коровы к здоровой (Schukken et al., 2011). Подстилка является наиболее распространенным источником инфекции, особенно опилки и торф, которые служат основными резервуарами для этого заболевания, сюда же следует отнести почву и воду (Klaas, Zadoks, 2018; Duse et al., 2021). *K. pneumoniae* гораздо быстрее, чем *E. coli*, избегает ингибирования лактоферрином лейкоцитов и проникает в молочную железу. Инфекция *K. pneumoniae* чаще всего развивается сначала как субклинический мастит в конце сухостойного периода и затем до клинической стадии в начале лактации (Bradley, Green, 2000). Патогенез внутримолочного воспаления, вызванного *K. pneumoniae* не так хорошо исследован, как при мастите, вызванном *E. coli* (Cheng et al., 2020; Song et al., 2022). Анализ вскрытия коровы, которая была убита из-за серьезного клинического мастита, вызванного *K. pneumoniae*, показал, что ее можно культивировать как из тканей молочной железы, так и из легких. Причем изолят, полученный из легких, обладает тем же антибиотическим профилем, что и штамм из молока. Это наводит на мысль, что эта бактерия при определенных условиях может проникать и в другие органы. Остается добавить, что потери молока так же значительны в результате мастита, вызванного *K. pneumoniae* (Cheng et al., 2020).

Streptococcus uberis

Эта бактерия распространяется через окружающую среду, однако первичный путь ее передачи — от одного животного к другому. *S. uberis* классифицируют как потенциальный этиологический агент окружающей среды. *S. uberis*, как и *K. pneumoniae*, обычно обнаруживается в подстилке, включая торф и солому (Duse et al., 2021). *S. uberis* находят на поверхности кожи животных, например, на внешней стороне вымени или на морде, то есть совместная дойка здоровых и инфицированных коров может быть одним из путей передачи этого возбудителя от одной коровы к другой (Wente et al., 2019). Поскольку заражение обычно происходит

во время доения, дезинфекция, уборка, обновление подстилочного материала и удаление навоза помогают в лечении экологического мастита, вызванного *S. uberis*. Пастбище само по себе является основным естественным источником *S. uberis* (Sherwin et al., 2021).

Интенсивность воспаления в молочной железе может определяться иммунным статусом хозяйки, природой патогена и типом штамма (Keane, 2019). Большинство заражений *S. uberis* происходит во время сухостоя коров и часто протекает бессимптомно (Vailati-Riboni et al., 2021). После эффективного лечения молочной железы, вызванного инфекцией *S. uberis*, был обнаружен повышенный риск повторного заражения, особенно в персистирующих случаях (Fessia, Odierno, 2021).

Streptococcus agalactiae

Несколько косвенных доказательств показали, что работники доильного цеха могут быть источниками и переносчиками *S. agalactiae* в молочное стадо. В ходе исследования было установлено, что изоляты *S. agalactiae*, полученные при мастите вымени крупного рогатого скота и инфекциях человека генетически схожи на 58%, в то время как группировка изолятов показала генетическое сходство на 70% (Martinez et al., 2000). При этом маститы, вызванные “человеческими вариантами инфекции”, гораздо чаще приводят к спонтанному выздоровлению коров (Botelho et al., 2018). Считается также, что у молодых коров во время начальной фазы лактации наблюдалась высокая устойчивость к *S. agalactiae*.

Распространенность *S. agalactiae* указывает на то, что этот патоген является основным источником возникновения мастита, особенно в плохо управляемых и на недостаточно чистых фермах (Mohammad et al., 2012; Kassa et al., 2014). В таких странах, как Эфиопия (Motaung et al., 2017) и Пакистан (Ashfaq et al., 2015; Khan et al., 2015) появление инфекционного мастита связывают с негигиеничными методами доения (Lakew et al., 2019). Бактерия может выживать в течение длительного периода и оставаться необнаруженной. Именно такие животные чаще всего выступают в качестве переносчиков инфекции (Rossi et al., 2018). *S. agalactiae* устойчива к антибиотикам, но может быть удалена с молочных ферм путем тщательного промывания сосков после доения и обработки вымени в период сухостоя (Ruegg, 2019).

Блиц-метод является одним из наиболее часто используемых для искоренения мастита *S. agalactiae*. Такой подход предполагает одновременное лечение всех коров в стаде, независимо от статуса заболевания. Однако этот подход достаточно дорогостоящий и может привести к развитию устойчивости к антибиотикам. Поскольку использование

антибиотиков для профилактики мастита запрещено в некоторых странах, метод корректируется таким образом, чтобы только те животные, у которых проявляются симптомы заболевания, получили лечение (Edmondson, 2011).

Staphylococcus aureus

У молочных коров инфекции, вызванные *S. aureus*, остаются доминирующей причиной мастита, поскольку во время лактации уровень лечения антибиотиками относительно низок, то зачастую инфекция переходит в хроническую форму, что требует изъятия больных животных. С маститом, вызываемым этой бактерией, можно справиться, только избегая новых инфекций и выбраковывая больных коров (Zaatout et al., 2020). Инфекция передается от животного к животному, через доильное оборудование, мочалки, руки доильного персонала (Carugo et al., 2010; Keefe, 2012).

Несмотря на то, что *in vitro* штаммы *S. aureus* чувствительны к широкому спектру антибиотиков, фермеры часто сообщают, что показатели излечения *in vivo* в действительности ниже. Этот результат может быть подтвержден данными о том, что *S. aureus*, по-видимому, обладает способностью выживать в присутствии нейтрофилов (Vrieling et al., 2016) и вызывать фиброз вымени и инвазию эпителиальных клеток молочной железы (Wu et al., 2018). Наиболее важной причиной низкого уровня излечения является способность инфекции образовывать микроабсцессы, которые препятствуют доступу антибиотиков к бактериям (Smith et al., 2015). Согласно результатам исследования, мастит, вызванный *S. aureus*, вызывает долговременные потери продуктивности у животных. Инфекция вызывает необратимое повреждение секреторной ткани вымени, которая затем заменяется несекреторной, снижая способность коровы вырабатывать молоко (Zhao, Lasse, 2008). У коров первой лактации *S. aureus* был обнаружен в 12–15% случаев, но большинство больных животных остаются не выявленными в течение всего периода лактации, выступая в качестве переносчиков болезни в стаде (Rossi et al., 2019). Патоген обладает пониженной чувствительностью к терапии *in vivo* и обычно остается в вымени (Zaatout et al., 2020). Степень устойчивости *S. aureus* к пенициллину варьируется в зависимости от периода исследования и страны (El-Ashker et al., 2020).

Streptococcus dysgalactiae

S. dysgalactiae — патоген, вызывающий мастит, хотя трудно сказать, какой именно, инфекционный или экологический (Kabelitz et al., 2021). *S. dysgalactiae* можно обнаружить в молочной железе, кишечнике, фекалиях, подстилке, в хлеву. Эта

бактерия была идентифицирована в вымени, на морде, в миндалинах и влагалище (Skarbye et al., 2021). Мастит, вызванный *S. dysgalactiae*, может появиться в стаде во время сухостойного периода, даже если ранее заболевание не было замечено (Abdelrahman et al., 2020). Эта бактерия редко исследуется независимо, т.к. большинство исследователей не отличают *S. dysgalactiae* от *Streptococcus* spp. (Kabelitz et al., 2021). Распространенность маститов, вызванных *S. dysgalactiae* часто эквивалентна или превышает заболеваемость от *S. uberis* (Bennett et al., 2021). Воспаление от *S. dysgalactiae* часто протекает тяжело (An et al., 2021). *S. dysgalactiae* присутствует в окружающей среде, в редких случаях, в летний сезон, может распространяться насекомыми-переносчиками, такими как мухи или осы (Wente, Krömker, 2020). Инфекция способна нейтрализовать неспецифический иммунитет животного путем секреции ферментов и ядов, которые могут преодолеть эту реакцию (Abril et al., 2020).

ИММУННЫЙ ОТВЕТ И СНИЖЕНИЕ ВОСПРОИЗВОДСТВА

Бактериальное заражение молочных желез приводит к активации иммунной системы и воспалению, за которым следует секреция липосахаридов (ЛПС) и других микробных соединений. После заражения состав и концентрация молекул крови резко меняются. Репродуктивные и нерепродуктивные ткани подвергаются воздействию цитокинов и других медиаторов воспаления, которые изменяют состояние и активность клеток, включая апоптоз и выработку различных гормонов. Из-за этих изменений в созревании яйцеклеток, овуляции и развитии раннего эмбриона у коров может наблюдаться снижение репродуктивных показателей (Edelhoff et al., 2020).

Вызванные болезнью иммунные реакции могут быть причиной некоторых пагубных последствий для фертильности. Когда бактерии атакуют молочные железы, это приводит к высвобождению цитокинов, которые воздействуют на репродуктивные органы. У коров с маститом повышен уровень воспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) и интерлейкин-6 (IL-6) в эпителиальных клетках молочных желез. Кроме того, в молоке повышаются концентрации оксида азота и простагландина F2a (Piotrowska-Tomala et al., 2015). TNF- α ухудшает высвобождение гормонов гранулезными и тека-клетками яичников, изменяет функцию ароматазы гранулезных клеток и высвобождение эстрадиола, что, в свою очередь, влияет на функцию яйцеклеток. Снижение синтеза стероидов может изменить состав жидкости яйцеклеток в фолликулах, нарушая оплодотворение и развитие эмбриона. В плазме крови под действием цитокинов,

таких как интерферон альфа (INF- α), происходит ингибирование выработки лютеинизирующего гормона (ЛГ) и снижение концентрации прогестерона. Рост опидуктальных эпителиальных клеток также может подавляться INF- α , рост фолликулов и синтез эстрогена, индуцированный FSH (follicle-stimulating hormone), ингибируются IL-6 (Samir et al., 2017). PGF2a может быть медиатором ингибирующих эффектов TNF- α и IL-1 β на развитие ооцитов и эмбрионов. Выработка простагландинов в эндометрии стимулируется TNF- α и IL-1 β , которые, в свою очередь, усиливают лютеолиз и изменяют пролиферацию эндометрия через PGF2. Матка коров с маститом очень чувствительна к высвобождению PGF2. Повышенные уровни PGF2 вызывают разрушение желтого тела, затруднение эмбрионального роста и индуцирование сокращений матки, что приводит к прерыванию беременности (Jackson et al., 2012). Под действием провоспалительных цитокинов, таких как IFN- γ и TNF- α , образуется окись азота (NO), что оказывает влияние на развитие яйцеклетки и выживание эмбриона (De, Mukherjee, 2014). Повышенная экспрессия проапоптотического гена *Bax* под действием NO приводит к уменьшению количества ооцитов и фолликулов яичников, а также к увеличению гибели эмбриональных клеток. Повышение уровня NO не только препятствует росту бластоцист, но также может привести к неправильной имплантации эмбриона, увеличивая шансы на прерывание беременности (Santos et al., 2018).

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ – ПРОБЛЕМА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МАСТИТА

У коров антибиотики широко используются (примерно до 70%) в течение сухостойного периода для лечения и профилактики мастита и уменьшения инфекций вымени (Kuipers et al., 2016; Tijs et al., 2022). Однако основной проблемой в лечении мастита является способность патогенных микроорганизмов приобретать устойчивость к противомикробным препаратам, что приводит к низким показателям излечения в случаях мастита. Это еще больше усугубляется плохим выбором антибиотиков, отсутствием протокола лечения и плохой реакцией животного на лечение из-за стресса (Tvárožková et al., 2019). В связи с чем, использование антибиотиков для лечения мастита становится менее эффективным, а остатки антибиотиков в молоке могут представлять опасность для здоровья человека. Повышенный уровень множественной лекарственной устойчивости бактерий представляет серьезную угрозу для общественного здравоохранения, и использование антибиотиков в молочном животноводстве должно быть тщательно скорректировано (Pokharel et al., 2020). ВОЗ рекомендует ограничить использование антибиотиков при лечении заболеваний у живот-

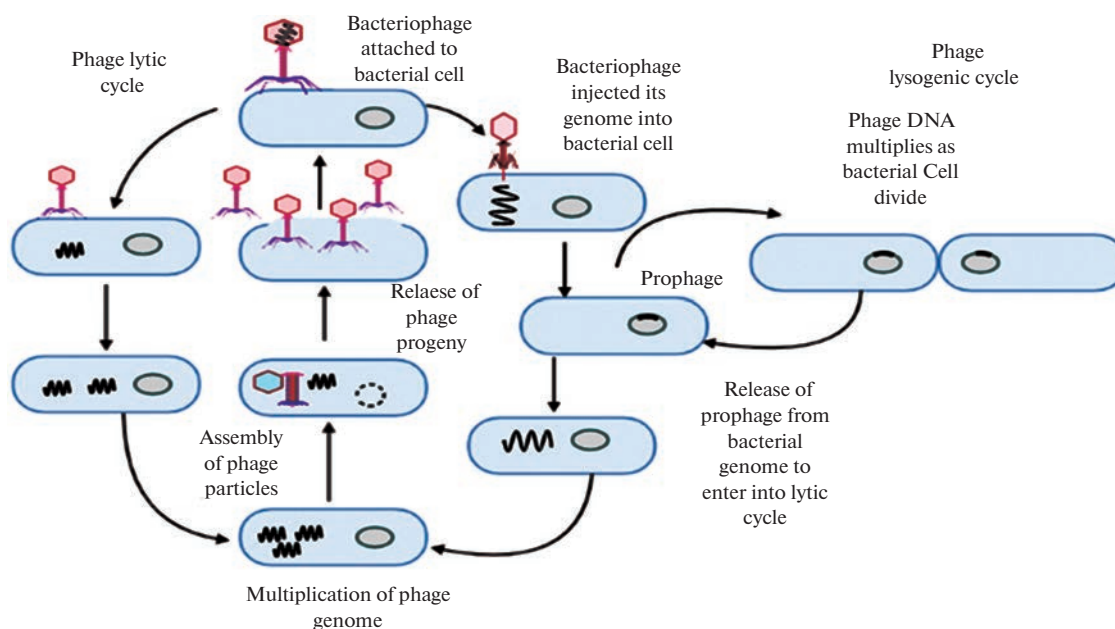


Рис. 1. Литический и лизогенный жизненные циклы бактериофага.

ных, чья продукция или они сами используются в пищу человеком (O'Neill, 2016). Несмотря на высокую скорость восстановления, у этого метода лечения есть несколько недостатков, в том числе длительное время выдержки молока и мяса (Garcia et al., 2019). Антибиотики используются для лечения и профилактики мастита, но их эффективность быстро снижается по мере того, как бактерии становятся более устойчивыми к ним (Boireau et al., 2018; Ismail, Abutarbush, 2020). Неправильное использование антибиотиков в терапии животных является причиной таких проблем, как развитие бактериальных штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (Ruegg, 2021). В настоящее время изучаются способы минимизации количества антибиотиков, используемых для профилактики и лечения мастита, а также предотвращения развития устойчивых к этим антибиотикам штаммов (Gomes, Henriques, 2016).

БАКТЕРИОФАГИ

Бактериофаги — это вирусы, которые могут заражать и размножаться в бактериальной клетке. В природе их существует очень много и они чрезвычайно разнообразны по своей морфологии, размеру и генетической структуре (Simmonds, Aiewsakun, 2018). Когда бактериофаг заражает бактерии, он внедряет свой геном в цитоплазму бактериальной клетки, разрушая бактериальную клеточную стенку путем выработки литического фермента. После заражения бактериальной клетки фаги могут инициировать лизогенный и литический циклы (рис. 1). В лизогенном цикле геном фага инте-

грируется в бактериальный геном и реплицируется вместе с бактерией. На этой стадии фаг известен как профаг. В литическом цикле фаг разрушает бактериальную клеточную стенку и высвобождает вирионы (Wittebole et al., 2014). При этом эндолизин бактериофагов могут быть использованы для лечения мастита, вызванного бактериальной инфекцией (Zduńczyk, Janowski, 2020), они не только вызывают разрушение клеточных стенок бактерий, но и нарушают образование биопленок бактериями, вызывающими мастит: *S. aureus*, *K. pneumonia*, *E. coli*, *S. agalactiae* и другими (Łusiak-Szelachowska et al., 2020).

Использование бактериофага в качестве противомикробного средства против бактерий, вызывающих мастит

В последние несколько лет фаготерапия вызывает интерес при лечении мастита. Различные результаты фаготерапии показали свою эффективность против различных бактериальных инфекций, вызывающих мастит. В основном исследователи сосредоточились на лечении мастита, ассоциированного с *S. aureus*, потому что эту бактерию чаще всего выделяли при мастите и именно она вызывала серьезное воспаление (Qolbainiet al., 2021). О'Флаэрти с соавт., (O'Flaherty et al., 2005a) выделили два новых фага против *S. aureus* из навозной жижи на ферме. Названные как DW2 и CS1, оба фага проявляли высокую литическую активность против *S. aureus*. Эффективность этих фагов сравнивалась с ранее выделенным фагом К, который может убивать множество различных видов ста-

филококков. DW2 и CS1 вводили в вымя коров совместно, при этом у животных исчезали признаки мастита. Количество соматических клеток в молоке не изменилось, а это означает, что фаги можно использовать в профилактических целях, поскольку они не вызывали никакого раздражения тканей молочной железы. Гилл с соавт. (Gill et al., 2006) также работали над бактериофагом К. Бактериофаг К давали молочным коровам в течение пяти дней, чтобы помочь им бороться с маститом, ассоциированным с *S. aureus*. Исследователи сообщили, что после фаготерапии 16.7% коров были эффективно излечены. Так как бактериофаг К нокаутировался иммунными клетками коров, можно говорить о существовании ограничений на его использование. Другие исследователи (Kwiatek et al., 2012) выделили поливалентный фаг (MSA6) от коров, пораженных маститом, который оказался эффективен против устойчивых к метициллину *S. aureus*. Этот фаг также был очень эффективен против штаммов MRSA, выделенных из человеческой популяции. Хан с соавт. (Han et al., 2013) получили бактериофаг SAH-1 против *S. aureus* из сточных вод молочных ферм, где были зарегистрированы случаи мастита. Аналогичным способом Хамза с соавт. (Hamza et al., 2016) выделили бактериофаги, которые проявляли высокую литическую активность против *S. aureus* и уменьшали инфицирование молочных желез. Ганае с соавт. (Ganaie et al., 2018) обнаружили два фага, SAJK-IND и MSP, против *S. aureus*, ассоциированного с маститом. SAJK-IND принадлежит к семейству Myoviridae, а MSP — к Podoviridae. SAJK-IND показал 100%-ную литическую активность, в то время как MSP только 40%.

Гуо с соавт. (Guo et al., 2021) использовали смесь из трех бактериофагов — SYGD1, SYGE1 и SYGMH1, против *E. coli* для лечения мастита. Эти фаги значительно уменьшили количество бактерий, соматических клеток и иммунный ответ, а также облегчили симптомы мастита. Иными словами, фаговый коктейль может стать потенциальной альтернативой лечению мастита, вызванного устойчивой к антибиотикам кишечной палочкой *E. coli*.

Исследования *in vitro* показали возможность использования бактериофагов на коровах для профилактики мастита, ассоциированного с *E. coli*. Более половины изолятов *E. coli* были ингибированы комбинацией четырех различных бактериофагов. Адгезия *E. coli* и целостность клеток были снижены при предварительной обработке смесью бактериофагов. Комбинация фагового коктейля и герметика для сосков на основе висмута существенно подавляла рост *E. coli* в клинических исследованиях на маститных коровах (Porter et al., 2016).

Чжао с соавт. (Zhao et al., 2021) выделили бактериофаг CM8-1 против *K. pneumoniae*. Введение этого бактериофага в ткань молочной железы мышей,

инфицированных *K. pneumoniae*, привело к уменьшению количества бактерий в молочной железе, улучшению морфологических характеристик тканей и снижению воспалительного процесса.

Таким образом, фаготерапия рассматривается как возможное лечебное и профилактическое средство при терапии мастита.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФАГОВОГО ЭНДОЛИЗИНА

Бактериофаги используют эндолизины для разрушения бактериальной клеточной стенки, чтобы они могли высвобождать вирионы. Эндолизин мог бы стать многообещающей альтернативой антибиотикам. Исследования показали, что эндолизины могут также разрушать клеточную стенку бактерий, если они применяются экзогенно (Love et al., 2018).

В основном эксперименты по применению эндолизина проводились при лечении мастита, связанного с грамположительными бактериями, поскольку грамотрицательные бактерии имеют внешнюю мембрану и эндолизины не могут попасть в пептидогликановый слой (Rojas et al., 2018). О'Флаэрти с соавт. (O'Flaherty et al., 2005b) создали генетически модифицированные молочнокислые бактерии, экспрессирующие фаговый эндолизин гена *LysK*. Было показано, рекомбинантный фаговый лизин ингибировал патогенез стафилококков широкого спектра, включая патогенный *S. aureus*, связанный с маститом. Донован с соавт. (Donovan et al., 2006) определили, что рекомбинантный эндолизин бактериофага ph11, был очень эффективен в снижении патогенеза *S. aureus*, выделенных от коров, зараженных маститом. Этот же эндолизин также был очень эффективен против коагулазонегативных стафилококков. В коровьем молоке эндолизин наиболее активен при pH 6.7 и концентрации кальция 3 ммоль/л. Другие исследователи (Fan et al., 2016) использовали эндолизин TrxSA1 бактериофага IMESA, чтобы увидеть, насколько хорошо он действует против *S. aureus*. Этот эндолизин проявил высокую бактериолитическую активность в отношении 43% штаммов *S. aureus*, выделенных от коров с маститом. Чжоу с соавт. (Zhou et al., 2017) создали эндолизин лизинамидазу (*LysK*Δamidase), которая проявляет широкую литическую активность в отношении метициллинрезистентного *S. aureus* (MRSA) и не-MRSA-штаммов, полученных от молочных коров, страдающих маститом.

Эндолизины SA2 и B30 стрептококковых фагов были исследованы *in vitro* на мышцах с индуцированным маститом (Schmelcher et al., 2015). Обработка этими ферментами снижала уровень стрептококков внутри молочных желез у мышей с маститом. Авторы (Scholte et al., 2018) сообщили, что поли-

морфноядерные нейтрофилы крупного рогатого скота (PMN) были инокулированы рекомбинантным эндолизином PlyC стрептококкового фага C1. У крупного рогатого скота эндолизин PlyC не проявлял цитотоксической активности и не нарушал окислительный ответ PMN.

Вандер Эльст с соавт. (Vander Elst et al., 2020) показали, что два эндолизина — PlySs2 и PlySs9, полученные из профагов *S. suis* серотипа 2 и серотипа 9 обладают литической активностью против *S. uberis* в условиях *in vitro*. Используя точечные тесты на пластинке и анализы снижения мутности, оба эндолизина образовали явные зоны лизиса и снизили оптическую плотность. PlySs2 и PlySs9 были определены как потенциальная альтернатива существующим антибиотикам против *S. uberis*.

ОГРАНИЧЕНИЕ ФАГОВОЙ ТЕРАПИИ

Существуют различные причины, по которым бактериофаги неэффективны при лечении мастита у коров. Проблема с фаговой обработкой заключается в ее специфичности. Фаги есть повсюду, однако выбор терапевтических бактериофагов имеет решающее значение для лечения мастита на коммерческих молочных фермах. Фаги, полученные из одного клинического бактериального штамма, могут оказаться неспособными убивать другие полевые бактериальные штаммы. Они обычно нацелены на подтипы внутри вида, серовара или серогруппы. Специфичность к диапазону хозяев может быть повышена с помощью смеси фагов или путем выделения патогена и исследования его на чувствительность к фагам (Nilsson et al., 2014). Популяции патогенных бактерий обычно сокращаются, но не уничтожаются фагами (Porter et al., 2016). Иммунный ответ также является фактором, влияющим на активность фагов. Так, поликлональный бычий IgG способствовал агрегации *S. aureus* (SA003) из образцов сырого молока, инфицированного маститом, что приводило к замедлению лизиса бактериофага SA012 (Tanji et al., 2015). Многочисленные проблемы также были связаны с использованием фаговых продуктов. Использование бактериофагов на коммерческих производственных объектах вызывает опасения по поводу появления устойчивых к фагам видов бактерий. После фаговой обработки наблюдались бактериальные вариации, устойчивые к фагам (Azam, Tanji, 2019), также может повыситься устойчивость к антибиотикам, опосредованная плазмидой. После бактериального лизиса плазмиды, содержащие гены устойчивости к противомикробным препаратам, могут передаваться между бактериями и ограничивать фаговую обработку против бактерий (Colavecchio et al., 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Различные исследования *in vitro* и на лабораторных животных с индуцированным маститом показали, что эндолизины бактериофагов перспективны для борьбы с маститом у коров. Однако немногие клинические исследования показали, что хотя бактериофаги эффективны в профилактике или лечении мастита, их использование пока ограничено. Высокая специфичность фагов к хозяину снижает эффективность фагового лечения. Необходимы дополнительные исследования, чтобы выявить максимальный потенциал бактериофагов и их эндолизинных для профилактики и лечения мастита у коров.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Статья не содержит никаких исследований с участием людей или животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abdelrahman M.A., Khadr A.M., Mahmoud A.A. et al. Occurrence of clinical and subclinical mastitis and associated risk factors in lactating goats with special reference to dry period infection and teat skin microflora // Alex. J. Vet. Sci. 2020. V. 64 (2). P. 95–101.
- Abdi R.D., Gillespie B.E., Ivey S. et al. Antimicrobial resistance of major bacterial pathogens from dairy cows with high somatic cell count and clinical mastitis // Animals. 2021. V. 11 (1). P. 131.
- Abebe R., Hatiya H., Abera M. et al. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia // BMC Vet. Res. 2016. V. 12 (1). P. 1–11.
- Abril A.G., Carrera M., Böhme K. et al. Proteomic characterization of antibiotic resistance in listeria and production of antimicrobial and virulence factors // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22 (15). P. 8141.
- An R., Gao M., Meng Y. et al. Infective mastitis due to bovine-associated *Streptococcus dysgalactiae* contributes to clinical persistent presentation in a murine mastitis model // Vet. Med. Sci. 2021. V. 7 (5). P. 1600–1610.
- Ashfaq M., Razzaq A., Muhammad G. Economic analysis of dairy animal diseases in Punjab: a case study of Faisalabad district // J. Anim. Plant. Sci. 2015. V. 25 (5). P. 1482–1495.
- Ashraf A., Imran M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis // Anim. Health. Res. Rev. 2020. V. 21 (1). P. 36–49.
- Awandkar S.P., Kulkarni M.B., Rhode N.V. Bacteria from bovine clinical mastitis showed multiple drug resistance // Vet. Res. Commun. 2022. V. 46 (1). P. 147–158.
- Azam A.H., Tanji Y. Bacteriophage-host arm race: an update on the mechanism of phage resistance in bacteria and

- revenge of the phage with the perspective for phage therapy // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2019. V. 103 (5). P. 2121–2131.
- Bachaya H.A., Raza M.A., Murtaza S., Akbar I.U.R. Sub-clinical bovine mastitis in Muzaffar Garh district of Punjab (Pakistan) // *J. Anim. Plant Sci.* 2011. V. 21 (1). P. 16–19.
- Balemi A., Gumi B., Amenu K. et al. Prevalence of mastitis and antibiotic resistance of bacterial isolates from CMT positive milk samples obtained from dairy cows, camels, and goats in two pastoral districts in Southern Ethiopia // *Animals*. 2021. V. 11 (6). P. 1530.
- Bennett S., Ben Said L., Lacasse P. et al. Susceptibility to nisin, bactofencin, pediocin and reuterin of multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* causing bovine mastitis // *Antibiotics*. 2021. V. 10 (11). P. 1418.
- Boireau C., Cazeau G., Jarrige N. et al. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006–2016 // *J. Dairy Sci.* 2018. V. 101 (10). P. 9451–9462.
- Botelho A.C., Ferreira A.F., Fracalanza S.E. et al. A perspective on the potential zoonotic role of *Streptococcus agalactiae*: searching for a missing link in alternative transmission routes // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. P. 608.
- Bradley A.J., Green M.J. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period // *J. Dairy Sci.* 2000. V. 83 (9). P. 1957–1965.
- Burvenich C., Van Merris V., Mehrzad J. et al. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors // *Vet. Res.* 2003. V. 34 (5). P. 521–564.
- Capurro A., Aspán A., Unnerstad H.E. et al. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems // *J. Dairy Sci.* 2010. V. 93 (1). P. 180–191.
- Cebon N., Maman S., Walachowski S. et al. Th17-related mammary immunity, but not a high systemic Th1 immune response is associated with protection against *E. coli* mastitis // *NPJ Vaccines*. 2020. V. 5 (1). P. 1–13.
- Cheng J., Zhang J., Han B. et al. *Klebsiella pneumoniae* isolated from bovine mastitis is cytopathogenic for bovine mammary epithelial cells // *J. Dairy Sci.* 2020. V. 103 (4). P. 3493–3504.
- Colavecchio A., Cadieux B., Lo A., Goodridge L.D. Bacteriophages contribute to the spread of antibiotic resistance genes among foodborne pathogens of the Enterobacteriaceae family – a review // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. P. 1108.
- De U.K., Mukherjee R. Activity of cyclooxygenase-2 and nitric oxide in milk leucocytes following intramammary inoculation of a bio-response modifier during bovine *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis // *Vet. Res. Commun.* 2014. V. 38 (3). P. 201–207.
- Duse A., Persson-Waller K., Pedersen K. Microbial aetiology, antibiotic susceptibility and pathogen-specific risk factors for udder pathogens from clinical mastitis in dairy cows // *Animals*. 2021. V. 11 (7). P. 2113.
- Edelhoff I.N.F., Pereira M.H.C., Bromfield J.J. et al. Inflammatory diseases in dairy cows: risk factors and associations with pregnancy after embryo transfer // *J. Dairy Sci.* 2020. V. 103 (12). P. 11970–11987.
- Edmondson P. Blitz therapy for the eradication of *Streptococcus agalactiae* infections in dairy cattle // In *Practice*. 2011. V. 33 (1). P. 33–37.
- El-Ashker M., Gwida M., Monecke S. et al. Antimicrobial resistance pattern and virulence profile of *S. aureus* isolated from household cattle and buffalo with mastitis in Egypt // *Vet. Microbiol.* 2020. V. 240. P. 108535.
- El-Sayed A., Kamel M. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era // *Trop. Anim. Health Prod.* 2021. V. 53 (2). P. 236.
- Fessia A.S., Odierno L.M. Potential factors involved in the early pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis: a review // *Folia Microbiol.* 2021. V. 66 (4). P. 509–523.
- Ganaie M.Y., Qureshi S., Kashoo Z. et al. Isolation and characterization of two lytic bacteriophages against *Staphylococcus aureus* from India: newer therapeutic agents against bovine mastitis // *Vet. Res. Commun.* V. 42 (4). 2018. P. 289–295.
- Garcia S.N., Osburn B.I., Cullor J.S. A one health perspective on dairy production and dairy food safety // *One Health*. 2019. V. 7. P. 100086.
- Gill J.J., Pacan J.C., Carson M.E. et al. Efficacy and pharmacokinetics of bacteriophage therapy in treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cattle // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006. V. 50 (9). P. 2912–2918.
- Goldstone R.J., Harris S., Smith D.G. Genomic content typifying a prevalent clade of bovine mastitis-associated *Escherichia coli* // *Sci. Rep.* 2016. V. 6 (1). P. 1–15.
- Gomes F., Henriques M. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches // *Curr. Microbiol.* 2016. V. 72 (4). P. 377–382.
- Guo M., Gao Y., Xue Y. et al. Bacteriophage cocktails protect dairy cows against mastitis caused by drug resistant *Escherichia coli* infection // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021. V. 11. P. 690377.
- Hamza A., Perveen S., Abbas Z., Rehman S.U. The lytic SA phage demonstrate bactericidal activity against mastitis causing *Staphylococcus aureus* // *Open Life Sci.* 2016. V. 11 (1). P. 39–45.
- Han J.E., Kim J.H., Hwang S.Y. et al. Isolation and characterization of a Myoviridae bacteriophage against *Staphylococcus aureus* isolated from dairy cows with mastitis // *Res. Vet. Sci.* 2013. V. 95 (2). P. 758–763.
- Holko I., Tančin V., Vršković M., Tvarožková K. Prevalence and antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy cows in Slovakia // *J. Dairy Res.* 2019. V. 6 (4). P. 436–439.
- Ijaz M., Mehmood K., Durrani A.Z. et al. Treatment of chronic mastitis in a dairy cow: a case report // *Glob. Vet.* 2014. V. 13 (1). P. 01–04.
- Ismail Z.B., Abutarbush S.M. Molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from bovine mastitis // *Vet. World*. 2020. V. 13 (8). P. 1588.
- Jackson L.R., Farin C.E., Whisnant S. Tumor necrosis factor alpha inhibits *in vitro* bovine embryo development through a prostaglandin mediated mechanism // *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2012. V. 3 (1). P. 1–4.
- Jingar S.C., Mahendra S., Roy A.K. Economic losses due to clinical mastitis in cross-bred cows // *J. Dairy Vet. Sci.* 2017. V. 3 (2). P. 555606.

- Kabelitz T., Aubry E., van Vorst K. et al. The role of *Streptococcus* spp. in bovine mastitis // Microorganisms. 2021. V. 9 (7). P. 1497.
- Kaczorowski L., Powierska-Czarny J., Wolko L. et al. The influence of bacteria causing subclinical mastitis on the structure of the cow's milk microbiome // Molecules. 2022. V. 27 (6). P. 1829.
- Kassa F., Ayano A.A., Abera M., Kiros A. Longitudinal study of bovine mastitis in Hawassa and Wendo Genet small holder dairy farms // Glob. J. Sci. Front. Res. 2014. V. 14. P. 34–41.
- Keane O.M. Symposium review: intramammary infections – major pathogens and strain-associated complexity // J. Dairy Sci. 2019. V. 102 (5). P. 4713–4726.
- Keefe G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis // Vet. Clin. N. Am. Food. Anim. Pract. 2012. V. 28 (2). P. 203–216.
- Khan A., Mushtaq M.H., Din Ahmad M.U. et al. Prevalence of clinical mastitis in bovines in different climatic conditions in KPK, (Pakistan) // Sci. Int. 2015. V. 27 (3). P. 2289–2293.
- Klaas I.C., Zadoks R.N. An update on environmental mastitis: challenging perceptions // Transbound. Emerg. Dis. 2018. V. 65. P. 166–185.
- Kuipers A., Koops W.J., Wemmenhove H. Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012 // J. Dairy Sci. 2016. V. 99 (2). P. 1632–1648.
- Lakew B.T., Fayera T., Ali Y.M. Risk factors for bovine mastitis with the isolation and identification of *Streptococcus agalactiae* from farms in and around Haramaya district, eastern Ethiopia // Trop. Anim. Health. Prod. 2019. V. 51 (6). P. 1507–1513.
- Love M.J., Bhandari D., Dobson R.C., Billington C. Potential for bacteriophage endolysins to supplement or replace antibiotics in food production and clinical care // Antibiotics. 2018. V. 7 (1). P. 17.
- Lusiak-Szelachowska M., Weber-Dąbrowska B., Górski A. Bacteriophages and lysins in biofilm control // Virol. Sin. 2020. V. 35 (2). P. 125–133.
- Martinez G., Harel J., Higgins R. et al. Characterization of *Streptococcus agalactiae* isolates of bovine and human origin by randomly amplified polymorphic DNA analysis // J. Clin. Microbiol. 2000. V. 38 (1). P. 71–78.
- Miles A.M., Huson H.J. Graduate student literature review: understanding the genetic mechanisms underlying mastitis // J. Dairy Sci. 2021. V. 104 (1). P. 1183–1191.
- Mohammad G., Hamid E., Mehrdad G. et al. Prevalence assessment of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* by multiplex polymerase chain reaction (M-PCR) in bovine sub-clinical mastitis and their effect on somatic cell count (SCC) in Iranian dairy cows // Afr. J. Microbiol. Res. 2012. V. 6 (12). P. 3005–3010.
- Motaung T.E., Petrovski K.R., Petzer I.M. et al. Importance of bovine mastitis in Africa // Anim. Health. Res. Rev. 2017. V. 18 (1). P. 58–69.
- Nagasawa Y., Kiku Y., Sugawara K. et al. The bacterial load in milk is associated with clinical severity in cases of bovine coliform mastitis // J. Vet. Med. Sci. 2019. V. 81 (1). P. 107–112.
- Nilsson A.S. Phage therapy – constraints and possibilities // Ups. J. Med. Sci. 2014. V. 119 (2). P. 192–198.
- O'Flaherty S., Coffey A., Meaney W. et al. The recombinant phage lysin LysK has a broad spectrum of lytic activity against clinically relevant staphylococci, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // J. Bacteriol. 2005a. V. 187 (20). P. 7161–7164.
- O'Flaherty S., Ross R.P., Flynn J. et al. Isolation and characterization of two anti-staphylococcal bacteriophages specific for pathogenic *Staphylococcus aureus* associated with bovine infections // Lett. Appl. Microbiol. 2005b. V. 41 (6). P. 482–486.
- O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016. https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf.
- Pillai A.M., Sankar V., Rahdar A. et al. Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with antibacterial and antifungal activity // J. Mol. Struct. 2020. V. 1211. P. 128107.
- Piotrowska-Tomala K.K., Bah M.M., Jankowska K. et al. Lipopolysaccharides, cytokines, and nitric oxide affect secretion of prostaglandins and leukotrienes by bovine mammary gland during experimentally induced mastitis *in vivo* and *in vitro* // Domest. Anim. Endocrinol. 2015. V. 52. P. 90–99.
- Pokharel S., Shrestha P., Adhikari B. Antimicrobial use in food animals and human health: time to implement “One Health” approach // Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2020. V. 9 (1). P. 1–5.
- Porter J., Anderson J., Carter L. et al. *In vitro* evaluation of a novel bacteriophage cocktail as a preventative for bovine coliform mastitis // J. Dairy Sci. 2016. V. 99 (3). P. 2053–2062.
- Qolbaini E.N., Khoeri M.M., Salsabila K. et al. Identification and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-associated subclinical mastitis isolated from dairy cows in Bogor, Indonesia // Vet. World. 2021. V. 14 (5). P. 1180–1184.
- Rojas E.R., Billings G., Odermatt P.D. et al. The outer membrane is an essential load-bearing element in gram-negative bacteria // Nature. 2018. V. 559 (7715). P. 617–621.
- Rossi B.F., Bonsaglia E.C.R., Castilho I.G. et al. Genotyping of long term persistent *Staphylococcus aureus* in bovine sub-clinical mastitis // Microb. Pathog. 2019. V. 132. P. 45–50.
- Rossi R.S., Amarante A.F., Correia L.B.N. et al. Diagnostic accuracy of Somaticell, California Mastitis Test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections // J. Dairy Sci. 2018. V. 101 (11). P. 10220–10229.
- Ruegg P.L. A 100-year review: mastitis detection, management, and prevention // J. Dairy Sci. 2017. V. 100 (12). P. 10381–10397.
- Ruegg P.L. What is success? A narrative review of research evaluating outcomes of antibiotics used for treatment of clinical mastitis // Front. Vet. Sci. 2021. V. 8. P. 639641.
- Saidani M., Messadi L., Soudani A. et al. Epidemiology, antimicrobial resistance, and extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in clinical bovine mastitis in Tunisia // Microb. Drug Resist. 2018. V. 24 (8). P. 1242–1248.
- Samir M.S., Glister C., Mattar D. et al. Follicular expression of pro-inflammatory cytokines tumour necrosis factor- α (TNF α), interleukin 6 (IL6) and their receptors in cattle: TNF α , IL6 and macrophages suppress thecal androgen production *in vitro* // Reproduction. 2017. V. 154 (1). P. 35–49.

- Santos G., Bottino M.P., Santos A.P.C. et al. Subclinical mastitis interferes with ovulation, oocyte and granulosa cell quality in dairy cows // *Theriogenology*. 2018. V. 119. P. 214–219.
- Sarma O., Hussain J. Bovine mastitis: an overview // *Vigyan Varta*. 2021. V. 2. P. 54–59.
- Schmelcher M., Powell A.M., Camp M.J. et al. Synergistic streptococcal phage λ SA2 and B30 endolysins kill streptococci in cow milk and in a mouse model of mastitis // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015. V. 99 (20). P. 8475–8486.
- Scholtz C.M., Nelson D.C., Garcia M. et al. Recombinant bacteriophage endolysin PlyC is nontoxic and does not alter blood neutrophil oxidative response in lactating dairy cows // *J. Dairy Sci.* 2018. V. 101 (7). P. 6419–6423.
- Schukken Y.H., Bennett G.J., Zurawski M.J. et al. Randomized clinical trial to evaluate the efficacy of a 5-day ceftiofur hydrochloride intramammary treatment on nonsevere gram-negative clinical mastitis // *J. Dairy Sci.* 2011. V. 94 (12). P. 6203–6215.
- Sharifi S., Pakdel A., Ebrahimie E., Aryan Y. et al. Prediction of key regulators and downstream targets of *E. coli* induced mastitis // *J. Appl. Genet.* 2019. V. 60 (3). P. 367–373.
- Sharun K., Dhama K., Tiwari R. et al. Advances in therapeutic and managerial approaches of bovine mastitis: a comprehensive review // *Vet. Q.* 2021. V. 41 (1). P. 107–136.
- Sherwin V.E., Egan S.A., Green M.J., Leigh J.A. Survival of *Streptococcus uberis* on bedding substrates // *Vet. J.* 2021. V. 276. P. 105731.
- Skarbye A.P., Krogh M.A., Denwood M. et al. Effect of enhanced hygiene on transmission of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus dysgalactiae* in dairy herds with automatic milking systems // *J. Dairy Sci.* 2021. V. 104 (6). P. 7195–7209.
- Smith E.M., Willis Z.N., Blakeley M. et al. Bacterial species and their associations with acute and chronic mastitis in suckler ewes // *J. Dairy Sci.* 2015. V. 98 (10). P. 7025–7033.
- Song S., He W., Yang D. et al. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* from clinical bovine mastitis in Northern area of China, 2018–2019 // *Engineering*. 2022. V. 10. P. 146–154.
- Sztachañska M., Barański W., Janowski T. et al. Prevalence and etiological agents of subclinical mastitis at the end of lactation in nine dairy herds in North-East Poland // *Pol. J. Vet. Sci.* 2016. V. 19 (1). P. 119–124.
- Tančin V., Mikláš Š., Mačuhová L. Possible physiological and environmental factors affecting milk production and udder health of dairy cows: a review // *Slovak J. Anim. Sci.* 2018. V. 51 (1). P. 32–40.
- Tanji Y., Tanaka A., Tani K. et al. IgG-dependent aggregation of *Staphylococcus aureus* inhibits bacteriophage attack // *Biochem. Eng. J.* 2015. V. 97. P. 17–24.
- Tijs S.H.W., Holstege M.M.C., Scherpenzeel C.G.M. et al. Effect of selective dry cow treatment on udder health and antimicrobial usage on Dutch dairy farms // *J. Dairy Sci.* 2022. V. 105 (6). P. 5381–5392.
- Turk R., Rošić N., Kuleš J. et al. Milk and serum proteomes in subclinical and clinical mastitis in Simmental cows // *J. Proteom.* 2021. V. 244. P. 104277.
- Tvarožková K., Tančin V., Holko I. et al. Mastitis in ewes: somatic cell counts, pathogens and antibiotic resistance // *J. Microbiol. Biotechnol. Food. Sci.* 2019. V. 9 (3). P. 661–670.
- Vailati-Riboni M., Coleman D.N., Lopreato V. et al. Feeding a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product improves udder health and immune response to a *Streptococcus uberis* mastitis challenge in mid-lactation dairy cows // *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2021. V. 12 (1). P. 1–19.
- Vander Elst N., Linden S.B., Lavigne R. et al. Characterization of the bacteriophage-derived endolysins plyss2 and plyss9 with *in vitro* lytic activity against bovine mastitis *Streptococcus uberis* // *Antibiotics*. 2020. V. 9 (9). P. 621.
- Vrieling M., Boerhout E.M., van Wigcheren G.F. et al. LukMF' is the major secreted leukocidin of bovine *Staphylococcus aureus* and is produced *in vivo* during bovine mastitis // *Sci. Rep.* 2016. V. 6 (1). P. 1–12.
- Wente N., Klocke D., Paduch J.H. et al. Associations between *Streptococcus uberis* strains from the animal environment and clinical bovine mastitis cases // *J. Dairy Sci.* 2019. V. 102 (10). P. 9360–9369.
- Wente N., Krömker V. *Streptococcus dysgalactiae* – contagious or environmental? // *Animals*. 2020. V. 10 (11). P. 2185.
- Wittebole X., De Roock S., Opal S.M. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens // *Virulence*. 2014. V. 5 (1). P. 226–235.
- Wu J., Ding Y., Wang J., Wang F. *Staphylococcus aureus* induces TGF- β 1 and bFGF expression through the activation of AP-1 and NF- κ B transcription factors in bovine mammary epithelial cells // *Microb. Pathog.* 2018. V. 117. P. 276–284.
- Yadav M.M. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in lactating cows with subclinical mastitis and their antibiogram in organized dairy farm, Maharashtra, India // *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2018. V. 7 (3). P. 3674–3680.
- Zaatout N. An overview on mastitis-associated *Escherichia coli*: pathogenicity, host immunity and the use of alternative therapies // *Microbiol. Res.* 2022. V. 256. P. 126960.
- Zaatout N., Ayachi A., Kecha M. *Staphylococcus aureus* persistence properties associated with bovine mastitis and alternative therapeutic modalities // *J. Appl. Microbiol.* 2020. V. 129 (5). P. 1102–1119.
- Zadoks R.N., Middleton J.R., McDougall S. et al. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. Part 1 – literature review // *J. Mamm. Gland. Biol. Neoplasia*. 2011. V. 16. P. 357–372.
- Zduńczyk S., Janowski T. Bacteriophages and associated endolysins in therapy and prevention of mastitis and metritis in cows: current knowledge // *Anim. Reprod. Sci.* 2020. V. 218. P. 106504.
- Zhao W., Shi Y., Liu G. et al. Bacteriophage has beneficial effects in a murine model of *Klebsiella pneumoniae* mastitis // *J. Dairy Sci.* 2021. V. 104 (3). P. 3474–3484.
- Zhao X., Lacasse P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control // *J. Anim. Sci.* 2008. V. 86 (13). P. 57–65.
- Zhou Y., Zhang H., Bao H. et al. The lytic activity of recombinant phage lysin LysK Δ amidase against staphylococcal strains associated with bovine and human infections in the Jiangsu province of China // *Res. Vet. Sci.* 2017. V. 111. P. 113–119.
- Zigo F., Elecko J., Vasil M. et al. The occurrence of mastitis and its effect on the milk malondialdehyde concentrations and blood enzymatic antioxidants in dairy cows // *Vet. Med.* 2019. V. 64 (10). P. 423–432.

Bacteriophages and their Endolysin: An Alternative Therapeutic Approach for Bovine Mastitis

R. Kanwar^{a, *}, M. A. Aslam^a, H. Zulqurnain^a, A. Qadeer^a, S. Ali^a, S. Nayab^a, and S. Mustafa^b

^aInstitute of Microbiology, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

^bDepartment of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

**e-mail: Rabiakanwar98@gmail.com*

Mastitis is one of the most prevalent and serious disease in bovines and led to high economic loss in the dairy industry. Mastitis dramatically reduces the reproduction abilities of cows. Despite significant progress in controlling and treating this disease, it is still frequent. Mastitis risks public health if milk from treated animals is taken by humans. Multiple factors are responsible for this disease, but bacterial mastitis is the most prevalent and threatening. The emergence of drug-resistant bacterial strains makes mastitis untreatable. Misuse of antibiotics in animal therapy is responsible for this issue, which resulted in the creation of strains that are multidrug resistant. This antibiotic resistance among bacteria is alarming. There is a need for an alternative treatment to cure mastitis. Bacteriophages are viruses, which kill bacteria. The effectiveness of bacteriophages and their endolysin against different bacterial infections causing mastitis has been approved from the results of various studies. Phage therapy is used as both a treatment and preventive measure.

Keywords: bacteriophage, endolysin, mastitis, multidrug resistance, bovine