

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-42-53

УДК 616.932:578.347(091)

Н.Б. Челдышова, С.П. Заднова, Е.Г. Абрамова, А.К. Никифоров, З.Л. Девдариани

Холерные бактериофаги: история открытия, строение и применение*ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

Вирусы, поражающие холерный вибрион, или холерные бактериофаги, открыты в начале XX в., когда в Юго-Восточной Азии, на Дальнем и Ближнем Востоке и в Европе свирепствовала шестая пандемия холеры. Это открытие положило начало интенсивному изучению холерных бактериофагов как перспективного средства в борьбе с холерой. В обзоре освещены вопросы, связанные с историей открытия и изучения холерных бактериофагов, описаны особенности их строения и жизненного цикла. Представлена коэволюционная стратегия взаимодействия холерных бактериофагов с клетками холерного вибриона, получившая название «динамика Красной королевы». Согласно этой стратегии штаммы холерного вибриона и холерные бактериофаги для того, чтобы выжить, должны постоянно эволюционировать и приспосабливаться, приобретая всё новые системы защиты друг от друга. Также в обзоре изложены сведения об основных известных на сегодняшний день антифаговых системах холерного вибриона (мутационные изменения рецепторного аппарата, выброс везикул внешней мембраны, система рестрикции-модификации, PLE-элемент, SXT-элементы, система исключения бактериофага BREX и CRISPR/Cas-системы, Abi-стратегия). Описаны фаговые системы контрзащиты (CRISPR/Cas-система, нуклеаза Odn, эпигенетическая модификация метилазой, система противодействия BREX). Проанализированы вопросы практического применения холерных бактериофагов в диагностике холеры (для идентификации, определения биовара возбудителя, его вирулентности и эпидемической значимости), приведены наиболее известные схемы фаготипирования. Охарактеризованы перспективные стратегии использования холерных бактериофагов в фаготерапии и фагопрофилактике холеры. Отдельно рассмотрены эффекты совместного использования фагов и антибиотиков в комплексной терапии.

Ключевые слова: холерный бактериофаг, холерный вибрион, коэволюция, фагодиагностика, фаготерапия.

Корреспондирующий автор: Челдышова Надежда Борисовна, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Челдышова Н.Б., Заднова С.П., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Девдариани З.Л. Холерные бактериофаги: история открытия, строение и применение. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 4:42–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-42-53

Поступила 01.04.2024. Отправлена на доработку 18.04.2024. Принята к публ. 07.05.2024.

N.B. Cheldyshova, S.P. Zadnova, E.G. Abramova, A.K. Nikiforov, Z.L. Devdariani

Cholera Bacteriophages: History of Discovery, Structure and Application*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

Abstract. Viruses that affect cholera vibrio, or cholera bacteriophages, were discovered in early twentieth century, when the sixth cholera pandemic was raging in Southeast Asia, the Far and Middle East and Europe. This discovery marked the beginning of intensive study of cholera bacteriophages as a promising means in the fight against cholera. The review highlights issues related to the history of the discovery and study of cholera bacteriophages and describes the features of their structure and life cycle. A co-evolutionary strategy for the interaction of cholera bacteriophages with *Vibrio cholerae* cells, called the “Red Queen dynamics”, is presented. According to this strategy, strains of *V. cholerae* and cholera bacteriophages, in order to survive, must constantly evolve and adapt, acquiring more and more new systems for defense from each other. The review also provides information about the main currently known anti-phage systems of *V. cholerae* (mutational changes in the receptor apparatus, release of outer membrane vesicles, restriction-modification system, PLE element, SXT elements, BREX bacteriophage exclusion system and CRISPR/Cas systems, Abi-strategy). Phage counter-defense systems are presented (CRISPR/Cas system, Odn nuclease, epigenetic modification by methylase, BREX countermeasures system). The paper analyzes the practical application of cholera bacteriophages in the diagnosis of cholera (for identification, determination of the biovar of the pathogen, its virulence and epidemic significance), and outlines the most well-known phage typing schemes. Promising strategies for the use of cholera bacteriophages in phage therapy and phage prevention of cholera are characterized. The effects of combined use of phages and antibiotics in complex therapy are considered separately.

Key words: cholera bacteriophage, cholera vibrio, co-evolution, phage diagnostics, phage therapy.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Nadezhda B. Cheldyshova, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Citation: Cheldyshova N.B., Zadnova S.P., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L. Cholera Bacteriophages: History of Discovery, Structure and Application.

Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2024; 4:42–53. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-42-53

Received 01.04.2024. Revised 18.04.2024. Accepted 07.05.2024.

Cheldyshova N.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>

Zadnova S.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Abramova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>

Nikiforov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>

Devdariani Z.L., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8528-1933>

Вирусы, поражающие бактерии, бактериофаги, или фаги (от греч. «*φαγος*» – пожирающий), впервые выделены еще в начале XX в. Открытие бактериофагов послужило отправной точкой для изучения их строения и взаимодействия с бактериальной клеткой. Поначалу считалось, что существует только один вид вирусов, способных поражать бактерии, *Bacteriophag umintestinale* [1]. Однако дальнейшие исследования показали, что существует большое количество видов бактериофагов, обладающих высокой специфичностью к определенным видам и штаммам бактерий. Так, объектом воздействия холерных бактериофагов (ХБ) является холерный вибрион (ХВ) – *Vibrio cholerae* – этиологический агент холеры, острой инфекционной болезни, характеризующейся обильной рвотой и секреторной диареей. Впервые ХБ были выделены в 1920 г. F. d’Herelle от переболевшего холерой человека [1–3].

Попадая в микробную клетку, ХБ начинают интенсивно размножаться. Когда их концентрация достигает определенных пределов, происходит лизис клетки с выходом ХБ за ее пределы. Оказавшись во внешней среде, ХБ заражают новые клетки с последующим их лизисом. Данная схема объясняет антибактериальный эффект ХБ, который широко используется для фаготипирования ХВ, а также может использоваться для фаготерапии и фагопрофилактики холеры. Препараты ХБ обладают рядом несомненных преимуществ. Они нетоксичны, не вызывают привыкания, обладают высокой специфичностью по отношению к ХВ. Кроме того, они могут использоваться как самостоятельно, так и в комплексной терапии наряду с антибиотиками (АБ) [4–9]. В то же время широкое использование препаратов ХБ привело к увеличению процента фагорезистентных штаммов ХВ, что в свою очередь снизило эффективность фаготерапии [1, 3]. В связи с этим, а также из-за появления в середине прошлого столетия АБ, способных быстро и эффективно бороться с ХВ, периоды активного изучения и использования ХБ сменялись периодами затишья. В настоящее время интерес к исследованиям в данной области вновь возрождается, что связано с появлением в конце прошлого столетия генетически измененных штаммов ХВ, несущих различные мобильные генетические элементы с генами АБ-резистентности.

За почти вековую историю изучения ХБ накоплено достаточно большое количество информации, позволяющей использовать их в микробиологии, генетике, вирусологии, биоинформатике, биотехнологии, биохимии и т.д. Тем не менее многие аспекты, касающиеся свойств ХБ, особенностей их взаимодействия с ХВ, а также возможного применения в научных исследованиях и медицине, требуют более подробного рассмотрения.

Целью обзора явилось обобщение информации о холерных бактериофагах и их взаимодействии с холерными вибрионами, накопленной за более чем вековой период изучения и применения.

История открытия холерных бактериофагов. Открытию бактериофагов предшествовало сразу два крупных события, произошедших в XIX в.: создание L. Pasteur теории о бактериальной природе инфекционных заболеваний и открытие вирусов русским бактериологом Д. Ивановским (1892 г.). Оба этих события стимулировали изучение культуральных и морфологических свойств возбудителей. За короткий промежуток времени появляется сразу несколько статей о лизировании различных бактерий неизвестными агентами. Среди них следует особо отметить сообщение английского бактериолога E. Hankin (1896 г.) о бактерицидном действии на ХВ профильтрованных через бактериальные фильтры вод индийских рек Ганг и Джамна [10, 11]. Ученый отмечал специфичность данного действия на ХВ (вода не приводила к гибели «тифойдных бацилл») и исчезновение антибактериального действия воды после ее длительного хранения или кипячения в открытых сосудах. Явление лизиса бактерий описывал и русский микробиолог Н.Ф. Гамалея в 1898 г. [3]. Однако E. Hankin и Н.Ф. Гамалея связывали лизис бактерий с действием некоего химического агента, а не с действием вируса. Предположение о вирусной природе лизогении независимо друг от друга высказали сразу два ученых – F. Twort в 1915 г. и F. d’Herelle в 1917 г. Тем не менее вплоть до 1940 г., когда немецким бактериологам Н. и E. Ruska впервые удалось сфотографировать бактериофаг и оценить его строение, споры между сторонниками корпускулярной и некорпускулярной версий лизогении не прекращались [11].

Открытие вирусов, паразитирующих на бактериях, положило начало их активному изучению и применению в диагностике и фаготерапии.

Среди зарубежных ученых большой вклад в изучение ХБ внесли F. d’Herelle, P. Flu, M. Schlesinger, M. Delbrück, E. Ellis и др. Было установлено, что бактериофаги широко распространены в воде, почве, организме человека и животных, в растениях и в культуре бактерий, изучено явление лизогении, установлена высокая специфичность бактериофагов к определенным видам и штаммам бактерий, получена очищенная культура бактериофага. F. d’Herelle показал, что рост фага происходит не непрерывно, а «толчками», установлено, что у бактерий, подвергшихся воздействию и получивших устойчивость к фагу, происходило изменение культуральных, антигенных и ферментативных свойств [11]. В 1923 г. P. Flu открыл способность некоторых ХВ спонтанно продуцировать холерные умеренные фаги [2]. M. Schlesinger установил приблизительный размер бактериофага (~0,1 мкм) и показал, что он содержит ДНК (в настоящее время известны и РНК-содержащие бактериофаги) и белки. M. Delbrück и E. Ellis исследовали влияние различных факторов (температуры, плотности посева, характера питательной среды и т.д.) на эффективность взаимодействия фага с бактерией [11].

Исследования бактериофагов проводились и в СССР. Особенно следует отметить работы М. Мельника и И. Ручко из Харьковского санитарно-бактериологического института, которые впервые выделили бактериофаг в СССР в 1922 г. Крупным центром по исследованию фагов стал бактериологический институт в Тбилиси под управлением Г. Элиавы, дважды стажировавшегося у F. d'Herelle в институте Пастера в Париже. Научные исследования по изучению бактериофагов проводились и в Москве, в отделе биохимии микробов биохимического института Наркомздрава РСФСР, под руководством З.В. Ермольевой [12].

Строение и свойства ХБ. По своему строению ХБ достаточно разнообразны: могут иметь головку и хвост, но могут быть и нитевидными, обычно они не имеют оболочек, содержат одно- и двухцепочечную ДНК. Некоторые ХБ кодируют собственную РНК-полимеразу, но обычно они используют РНК-полимеразу хозяина. Генетический аппарат фага состоит из отдельных модулей, которые в различных сочетаниях встречаются у разных видов фагов [13]. Так, гены *sep*, *orfU*, *zot* и *ace*, входящие в состав фага СТХф, соответствуют генам колифага Ff *gVIII*, *gIII*, *gVI* и *gI* [14]. В то же время некоторые фаги отличаются высокой стабильностью генома в пространственном и временном контекстах. Так, недавно получены данные о том, что фаг ICP1, до сих пор циркулирующий в Юго-Восточной Азии, впервые обнаружен в 1993 г. как фаг М4, а проведенное С.М. Boyd *et al.* изучение сиквенсов 67 фагов, выделенных в Бангладеш, Индии и Демократической Республике Конго в 1992–2019 гг., показало, что все эти изоляты являются фагом ICP1 [15]. В то же время обнаружение у штаммов *V. cholerae*, выделенных в 1942 г., антифаговых PLE (Phage inducible chromosomal island-like elements) островов [16], нацеленных на защиту исключительно от фагов ICP1, косвенно свидетельствует о том, что ICP1 циркулировали в природе еще в 40-х гг. прошлого века. Исследование фагов, разделенных по времени выделения на 25 лет, показало более 98 % идентичности нуклеотидов у 78 % геномов. При этом около 42 % открытых рамок считывания присутствовали у всех 67 изолятов, а 58 % генома составляли переменные области, которые, вероятно, отвечают за конкурентоспособность ICP1 в коэволюционной борьбе с ХВ. Так, одна из гиперпеременной областей, обнаруженная у ICP1 изолятов из Азии и Африки, относилась к рано экспрессируемым генам, которые, вероятно, участвуют в инфицировании клеток-хозяев. Предполагается, что гены этой области способствуют преодолению генетических различий в защите *V. cholerae* в разных географических областях [15].

Бактериофаги играют важную роль в круговороте органических веществ и энергии, они являются своеобразными «санитарами», контролируя численность бактерий, а также способствуют процессам эволюции как в результате коэволюционной борьбы,

так и путем осуществления горизонтального переноса генов между генетически отдаленными организмами [1, 17–19].

В отличие от других вирусов бактериофаги более устойчивы к воздействиям внешней среды. Они могут длительно сохраняться в высушенном или замороженном виде, при низких температурах, не чувствительны к действию 0,5 % раствора сулемы, 1 % раствора фенола, спирта, эфира, хинозола и хлороформа. Бактериофаги резистентны к ионизирующему и ультрафиолетовому облучению [1]. Инактивация фагов происходит при температуре выше 70 °С или при воздействии 1 % раствора формалина. Также отмечается, что фаги чувствительны к действию осмотического шока и лимоннокислому натрию [2].

Особенности жизненного цикла ХБ.

Бактериофаги в зависимости от характера жизненного цикла делятся на литические, или вирулентные, и лизогенные, или умеренные фаги. Кроме того, в последнее время в научных статьях все чаще отдельно выделяют хронические, или нитевидные, фаги и псевдолизогенные фаги [17].

Литические ХБ, проникая внутрь бактериальной клетки, приводят ее к гибели. Большинство литических ХБ по новой таксономии ICTV принадлежат к классу *Caudoviricetes* [20].

Литические ХБ не имеют оболочек, их ДНК упакована в прокапсид. Они содержат линейную двухцепочечную ДНК, размером от 18 до 500 т.п.н., сходные ДНК-транслоказы, но отличаются концами хромосом и зависящей от этого стратегией репликации ДНК [21]. ХБ адсорбируются на поверхности бактериальной клетки (БК), прикрепляясь к ее рецепторам с помощью хвостовых шипов или волокон, обладающих ферментативной активностью и способных деполимеризовать полисахариды клеточной стенки. В качестве фаговых рецепторов могут выступать липополисахарид, белки внешней мембраны (такие как OmpW, O-антиген и др.), жгутики и пили [1, 15, 17, 18, 22]. Хвостовые волокна сокращаются, хвостовая трубка проникает в периплазму, связывается с цитоплазматической мембраной и ДНК вируса, впрыскивается в цитоплазму БК. После проникновения в клетку ДНК ХБ немедленно реализует строго регулируемую программу экспрессии генов. Первые гены начинают экспрессироваться уже на 4-й минуте заражения. Функция большей части этих генов еще до конца неизвестна, вероятно, они необходимы для противодействия защитным механизмам ХВ, подавления процессов его жизнедеятельности и переключения работы БК на синтез фаговых частиц (ФЧ). Так, известно, что синтезируемый геном *orbA* белок противодействует системе исключения бактериофага BREX ХВ [23]. Следующими включаются гены, отвечающие за метаболизм нуклеиновых кислот и репликацию ДНК. Последними начинают экспрессироваться гены, участвующие в синтезе белков, необходимых для сборки ФЧ, или вирионов [15]. Когда ФЧ собраны, происходит лизис ХВ с выходом от 40

до 325 вирионов, которые заражают новые БК. Время между заражением клетки и выходом ФЧ называется латентным периодом и колеблется от 15 мин до 5 ч [1]. Лизис БК осуществляется с помощью двух основных белков – холина и эндолизина. Холин лизирует клеточную мембрану, после чего эндолизин атакует пептидогликан клеточной стенки, повреждение которого приводит к лизису БК и выходу ФЧ [15, 24]. Однако некоторые фаги, например фаг ICP1, способны отсрочивать лизис клетки до 90 мин с помощью белка ArgA (Gp138), выступающего в роли антихолина. При избытке неинфицированных холерных вибрионов фаг ICP1 способен выделять в среду новые порции фага уже через 20 мин после заражения. Экспрессия антихолина наблюдается в том случае, если в среде уже имеется большое количество ФЧ, что приводит к суперинфекции [25].

Умеренные ХБ, такие как CP-T1, Rostov-6, Rostov 7, проникая в клетку, не вызывают ее разрушения. Они обладают как литическим, так и лизогенным жизненным циклом. После проникновения в клетку ДНК умеренного ХБ с помощью сайт-специфической рекомбинации или транспозиции встраивается в строго определенную область бактериального генома, синхронно с ним реплицируется и передается по наследству, реализуя лизогенный жизненный цикл. БК при этом может претерпевать лизогенную конверсию, то есть приобретать новые морфологические, культуральные, ферментативные, антигенные, биологические и другие свойства. Так, штаммы ХВ, зараженные умеренными фагами, могут спонтанно в виде «всплесков» выделять ФЧ путем вирусной экструзии [26]. Гибели клеток при этом не происходит благодаря регуляторам транскрипции, предотвращающим излишнее накопление вирионов [2, 27]. Однако при изменении условий окружающей среды, воздействии ультрафиолетового или ионизирующего облучения, перекисного окисления или другого стресса, повреждении ДНК БК, а иногда и спонтанно ДНК фага может вырезаться из хромосомы, при этом может происходить индукция литического жизненного цикла с гибелью клетки-хозяина [1].

Хронические ХБ фактически являются одной из разновидностей умеренных фагов, отличаясь от них тем, что, встраиваясь в хромосому хозяина, могут длительное время сохраняться в виде профага, приводя к лизогенной конверсии клетки-хозяина и постоянно выделяя ФЧ [1]. Например, встраивание фага СТХф в геном *V. cholerae* приводит к тому, что бактерия становится вирулентной и начинает продуцировать холерный токсин, вызывающий профузную диарею, основной симптом холеры [28]. Большинство хронических фагов относятся к семейству *Inoviridae*, порядок *Tubulavirales* [29]. Нитевидные фаги лишены оболочки и несут одноцепочечную кольцевую ДНК. При изменении условий окружающей среды может происходить вырезание профага из хромосомной ДНК, в результате чего клетка может терять неко-

торые свойства [30]. Переключения на литический жизненный цикл и гибели клетки при этом не происходит. Так, культивирование штаммов *V. cholerae* в условиях речной воды может приводить к утрате профага СТХф, что сопровождается потерей ими токсигенности и вирулентности. Однако клетки ХВ продолжают активно размножаться и становятся более конкурентоспособными в водной среде [24]. ДНК некоторых нитевидных фагов не встраивается в хромосому бактериальной клетки, а сохраняется в клетке в виде плазмидного вектора, который может реплицироваться и передаваться из клетки в клетку во время деления или путем конъюгации [27]. Так, фаг СТХф может находиться в бактериальной клетке как в виде плазмиды, так и в интегрированном в хромосому состоянии [18].

Нитевидные фаги отличаются склонностью к кооперации. Так, профаг RS1, фланкирующий профаг СТХф с обеих сторон и имеющий одинаковые гены (*rstA*, *rstB*, *rstR*) с областью RS2 профага СТХф, не содержит гены морфогенеза и способен реплицироваться, используя гены фага СТХф или фага TLCф. В то же время для репликации генома профага СТХф требуется белок RstC, кодируемый одноименным геном, расположенным на RS1ф [31]. Отмечается также, что для репликации СТХф требуется присутствие двух профагов СТХ либо тандема СТХ-RS1. При наличии только одного профага СТХф образования ФЧ не наблюдается [18].

Псевдолизогенные фаги трудно считать отдельной разновидностью фагов, так как это, скорее, особая форма взаимодействия фага с БК, которая сильно ослаблена или истощена, в результате чего фагу не хватает энергии для реализации литического или лизогенного цикла, и он вынужден долгое время сохраняться в непродуктивном и нерепликативном состоянии. Добавление в среду питательных веществ приводит к переключению фага на литический или лизогенный цикл [17].

Стратегии коэволюции фага и бактерии.

В природе постоянно идет борьба между бактериями и фагами. ХБ атакуют *V. cholerae*, а ХВ защищаются от них с помощью различных механизмов. Одним из таких механизмов являются мутационные изменения рецепторного аппарата, благодаря чему фаги теряют возможность прикрепляться к клетке и в дальнейшем проникать в нее. Другой механизм связан с выбросом везикул внешней мембраны (OMV), которые, с одной стороны, усиливают вирулентность ХВ, а с другой – являются отвлекающей приманкой для ФЧ [32]. Кроме того, *V. cholerae* способны приобретать мобильные генетические элементы, несущие системы защиты от вирусов. Одной из таких систем является элемент PLE, ограничивающий репликацию фага. При попадании в клетку фага ICP1 он начинает выработку белка RexA, который является триггером для вырезания PLE-острова из хромосомы за счет его воздействия на PLE-кодируемую интегразу [15]. Далее PLE с помощью собственного

фактора инициации репликации (RepA) перенаправляет механизм репликации ICP1 на собственный геном, в результате чего PLE производит в восемь раз больше собственных реплицированных геномов, чем ICP1 [33]. Параллельно PLE нарушает образование конкатемеров ICP1 [33] и с помощью белка LidI препятствует ингибированию лизиса клетки, необходимого для накопления полноценных ФЧ [15]. В результате подобной стратегии PLE клетка ХВ гибнет, но останавливается инфицирование других клеток *V. cholerae*. Таким образом, вероятно, PLE-острова используют *V. cholerae* и ICP1 для собственного размножения и распространения.

Еще одной защитной системой *V. cholerae* является система CRISPR/Cas (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats – CRISPR associated proteins), включающая спейсеры (последовательности чужеродной генетической информации, полученные клеткой от встречавшихся с ней вирусов и плазмид) и Cas-белки, разрушающие попадающие в клетку вирусные и плазмидные нуклеиновые кислоты, комплементарные тем, что содержатся в CRISPR-спейсерах [34].

Кроме указанных систем в системе защиты ХВ от фагов принимают участие SXT-элементы, кодирующие ферменты рестрикции-модификации, и система исключения бактериофага BREX (bacteriophage exclusion) [34]. Работа системы рестрикции-модификации, находящейся в 5-й горячей точке SXT-элемента, заключается в том, что нуклеазы рестрикции разрезают чужеродную ДНК, незащищенную метилированием [34]. Механизм действия системы BREX до конца не выяснен. Известно, что метилтрансфераза, кодируемая геном *brxX* данной системы, метилирует аденин в ДНК хозяина. Однако в данном случае ДНК фага, по-видимому, не разрезается и не разрушается, хотя клетка становится устойчивой к инфицированию фагом [35].

Также клетка может включать стратегию Аби (abortive infection) инфекции, приводящей клетку к гибели на раннем этапе инфицирования фагом, когда фаговые частицы еще не успели сформироваться, что предотвращает заражение других клеток [36].

Таким образом, ХВ, эволюционируя, защищается от воздействия ХБ. В свою очередь фаги также эволюционируют, приобретая системы контрзащиты. Так, для защиты от PLE-островов фаг ICP1 приобрел систему CRISPR/Cas и нуклеазу Odn [37], нацеленные на антифаговые элементы *V. cholerae*. Следует отметить, что CRISPR/Cas-системы ХБ, в отличие от бактериальных, являются сильно редуцированными и часто содержат только отдельные фрагменты. Высказывается предположение, что они могут задействовать некоторые элементы CRISPR/Cas-системы хозяина [15].

Для борьбы с SXT-элементом фаги используют эпигенетическую модификацию метилазой, что позволяет им распространяться в присутствии родственных SXT [38]. А белок OrbA, как уже отмеча-

лось, противодействует системе исключения бактериофага BREX [23].

Подобная стратегия коэволюционной борьбы, согласно которой фагам и бактериям приходится постоянно эволюционировать, чтобы выжить в конкурентной борьбе, получила название «динамика Красной королевы» [19]. В схватке с фагами некоторым клеткам по тем или иным причинам удается выжить, при этом клетки часто претерпевают изменения в морфологии колоний, биохимических свойствах, агглютинабельности, чувствительности к антибиотикам, биовар- и сероварспецифичности, вирулентности и т.д. [2]. Эти изменения дорого обходятся ХВ. Исследования показывают, что ХВ, устойчивые к фагам, менее конкурентоспособны во внешней среде по сравнению с их фагочувствительными аналогами [39].

Применение холерных бактериофагов. ХВ нашли широкое применение в диагностике для идентификации выделяемых от людей или из внешней среды штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы, определения их биовара, вирулентности, эпидемической значимости и фаготипирования.

Идентификация. С целью идентификации ХВ М.С. Дрожжевиной и соавт. еще в 1973–1982 гг. разработан препарат поливалентного диагностического фага (ПДФ). Он включает X фаг С. Мукерджи и три авторских фага (3900, 7227, 7106). Также разработано три препарата, содержащих фаги X, 7106 и XVIII по отдельности [2].

В настоящее время ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов) выпускается «Фаг дифференциально-диагностический (ДДФ) вида *V. cholerae*, лиофилизат для диагностических целей по ТУ 8637-013-01898109-2007», содержащий четыре фага (XII, 182/154 (2), 78 и 92) и предназначенный для ускоренной идентификации вирулентных микроорганизмов: *V. cholerae* O1 классического и Эль Тор биоваров, *V. cholerae* неO1, *V. albensis* и дифференциации их от микроорганизмов *V. parahaemolyticus*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Commamonas*, *Pseudomonas* и *Escherichia coli*.

В 2021 г. М.П. Погожовой и соавт. для дифференциации *V. cholerae* O1-серогруппы предложен перспективный экспериментальный штамм Rostov-1. Однако диапазон литической активности данного фага составлял лишь 57,5 % [40], в связи с чем фаг нуждался в серьезной доработке. Также для идентификации и дифференциации микроорганизмов вида *V. cholerae* данными авторами предложен умеренный бактериофаг Rostov-6, с литической активностью 64,6 % в отношении ХВ O1-серогруппы двух биоваров [41].

Определение биовара. Для определения биовара штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы за рубежом применяются фаги Classic IV и El Tor 5 [42].

В России для определения биовара *V. cholerae* O1 используется препарат «Бактериофаги диагностиче-

ские холерные классический и эльтор, лиофилизат для диагностических целей» (регистрационное удостоверение № ФСР 2007/01532), в состав которого входят фаги С и эльтор. Однако участвовавшее выделение из внешней среды штаммов ХВ, нечувствительных к фагу эльтор, требует проведения работ по изучению причин указанной резистентности и поиску новых диагностических ХВ. В настоящее время во ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора на основе фагов Rostov-1 и Rostov-13 сконструирован «Диагностический бактериофаг для идентификации *V. cholerae* O1 биовара эльтор жидкий», который эффективно лизирует штаммы ХВ, выделенные после 2000 г. [41]. Использование данного фагового препарата параллельно (на разных чашках) с фагом Rostov M3, лизирующим штаммы *V. cholerae* O1 обоих биоваров, позволяет дифференцировать штаммы ХВ классического и Эль Тор биоваров [41]. Разработка указанных препаратов продолжается.

Определение вирулентности и эпидемической значимости. Еще в 1971 г. для определения вирулентности ХВ предложены фаги ХДФ-3, 4, 5 [2]. Эффективность указанных фагов в сочетании с тестом на гемолиз в 1965–1970 гг. составляла 72–96 %. Однако с появлением штаммов, несущих ген субъединицы В холерного токсина (*ctxB*) классического типа, эффективность фагов ХДФ резко снизилась. Н.М. Остроумовой в 1988 г. для определения эпидемической значимости предложены фаги *ctx⁺* и *ctx⁻*. В сочетании с тестом на гемолиз они диффе-

ренцировали *ctxAB⁺* и *ctxAB⁻* штаммы ХВ биовара Эль Тор [43].

Фаготипирование. Метод фаготипирования позволяет проследить распространение штаммов ХВ, установить связь между эпидемическими вспышками и единичными случаями холеры, а также судить о родстве отдельных штаммов бактерий.

За рубежом для фаготипирования предложено несколько схем, включающих разные бактериофаги (таблица).

Наибольшее распространение получила схема S. Vasu и S. Mukerjee, включающая пять фагов (I–V) и позволяющая дифференцировать штаммы ХВ биовара Эль Тор на шесть фаготипов [2, 3]. К 1993 г. в эту схему было добавлено пять новых фагов (M4 или ICP1, D10, N4, S5, S20), которые дифференцировали 99,6 % штаммов ХВ биовара Эль Тор на 146 фаготипов [44]. Практически одновременно индийскими учеными была предложена еще одна схема типирования с помощью других пяти фагов (VI, B2, B3, B4 и B5), которая позволяла разделять штаммы *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор на 7 фаготипов [45].

В Китае с 70-х гг. прошлого века для определения биовара и серовара, а также для фаготипирования используются пять литических ХВ (VP1 – VP5), с помощью которых определяется 32 фаготипа ХВ биовара Эль Тор [46].

Кроме того, в Китае, помимо указанной схемы фаготипирования, фаги применяются еще и для биотипирования, включающего определение чувствительности к фагу 919TR, ферментации сорбитола и

Схемы фаготипирования холерных вибрионов
V. cholerae phage typing schemes

Авторы Authors	Страна и год создания Country and year of creation	Количество фагов Number of phages	Количество фаготипов Number of phagotypes			Количество типлируемых штаммов <i>V. cholerae</i> The number of sensitive <i>V. cholerae</i> strains			Ссылки References
			Классика Classical	Эль Тор El Tor	O139	Классика Classical	Эль Тор El Tor	O139	
Basu S. и Mukerjee S. Basu S. and Mukerjee S.	Индия, 1957–1968 India, 1957–1968	5	5	6	–	>50 %	>50 %	–	[48]
Gallut J. и Nicole P. Gallut J. and Nicole P.	Франция, 1963 France, 1963	7	5	3	–	50 %	80 %	–	[48]
Newman F.S. и Eisenstark A. Newman F.S. and Eisenstark A.	США, 1964 USA, 1964	8	7	–	–	81 %	–	–	[48]
Дрожжевкина М.С. и Арутюнов Ю.А. Drozhevkina M.S. and Arutyunov Yu.A.	СССР, 1979 USSR, 1979	7	11	6	–	72 %	71 %	–	[3]
Lee J.V. и Furniss A.L. Lee J.V. and Furniss A.L.	Великобритания, 1981 Great Britain, 1981	14	–	<25	–	–	41 %	–	[48]
Gao S. <i>et al.</i>	Китай, 1984 China, 1984	5	32			–	–	–	[46]
Chattopadhyay D.J. <i>et al.</i>	Индия, 1993 India, 1993	10	2	146	–	–	99,6 %	–	[44]
Sarkar B.L. <i>et al.</i>	Индия, 1994 India, 1994	5	–	7	–	–	–	–	[45]
Chakrabarti A.K. <i>et al.</i>	Индия, 2000 India, 2000	5	–	–	10	–	–	100 %	[47]

гемолиз. Данная схема позволяет разделить штаммы холерного вибриона на 12 биотипов. Отмечается, что фаго-биотипирование позволяет дифференцировать клинические штаммы и природные изоляты, выделенные в межэпидемический период [22].

В 2000 г. А.К. Chakrabarti *et al.* разработана схема фаготипирования штаммов *V. cholerae* O139-серогруппы. Для этой цели использовано пять фагов (MAD-5, VE-2, CAL-3, S-2, MS-3), которые позволяли идентифицировать и фаготипировать штаммы *V. cholerae* O139-серогруппы на 10 фаготипов [47].

В нашей стране фаготипирование штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы проводилось по схеме М.С. Дрожжевиной и Ю.А. Арутюнова. Схема включала четыре фага Mukerjee (I, II, III и IV) и три авторских фага (3900, 455 и 7227), которые позволяли выделить 18 фаготипов ХВ [2, 3]. Также в институте «Микроб» (г. Саратов) для фаготипирования штаммов *V. cholerae* серогрупп неO1/неO139 разработан препарат ТЭПВ (1–7), позволяющий выделять 7 фаготипов.

Фаготерапия и фагопрофилактика. Второй аспект практического применения ХВ – использование в качестве лечебных препаратов.

Еще в 1927 г. Ф. d'Herelle начал исследования по фаготерапии и профилактике холеры в Индии, которая является эндемичной для холеры территорией. ХВ добавлялись в колодцы с водой в пораженных холерой деревнях, что привело к исчезновению случаев холеры в этих селениях [49]. С 1928 по 1935 г. в двух похожих индийских городах Наогаон и Габигандж было проведено масштабное исследование эффективности фаготерапии. При этом в Наогаоне населению раздавали фаговый препарат, а из жителей Габиганджа сформировали контрольную группу. Применение фагового препарата привело к тому, что с 1930 по 1935 г. случаи холеры в Наогаоне не наблюдались, в отличие от Габиганджа, где заболевания холерой продолжали наблюдаться с обычной интенсивностью [11]. При этом эффективность фаготерапии напрямую зависела от этапа болезни: чем раньше начиналось лечение, тем эффективнее оно оказывалось [1]. Начиная с 1930 г. препараты бактериофагов получили широкое распространение и стали активно производиться. Однако в связи с нарушением производителями правил отбора и приготовления фаговых препаратов их эффективность оказалась ниже заявленной. В результате уже к началу 1940-х гг. многие врачи стали заменять фаговые препараты на только что появившиеся сульфаниламиды и антибиотики [11].

В СССР также активно проводилась работа по изучению бактериофагов и их практического применения. Сотрудникам биохимического института Наркомздрава РСФСР З.В. Ермольевой и Л.М. Якобсон удалось разработать фаговый препарат для лечения и профилактики холеры, содержащий 15 рас холерных фагов, а также найти метод приготовления высокоэффективного, высокоустой-

чивого и удобного для транспортировки сухого таблетированного бактериофага [12]. Уже в 30-х гг. XX в. фаготерапия и фагопрофилактика стали широко применяться во многих республиках СССР. Так, в 1939–1941 гг. З.В. Ермольева была командирована в приграничный с Афганистаном и Ираном, где свирепствовала холера, г. Темрез в Узбекистане для предотвращения эпидемии. В результате был разработан поливалентный препарат, включавший 19 фагов, активных против холеры, дифтерии и брюшного тифа. Использование комплексного бактериофагового препарата, который давали местному населению и пограничникам, добавляли в колодцы и пруды, предотвратило развитие эпидемии [12].

В 1942 г. в прифронтовом Сталинграде, когда на фронте и в самом Сталинграде свирепствовала холера, З.В. Ермольевой был налажен выпуск ХВ, который с успехом использовался для ежедневного профилактического приема 50 тыс. человек. Это помогло предотвратить распространение болезни [11].

После Второй мировой войны исследования ХВ продолжились. В 1958 г. для лечения холеры в Пакистан были направлены советские врачи. Терапия осуществлялась бактериофагом, который вначале вводили внутривенно по 5–10 мл одновременно с соевым раствором, а затем давали *per os* по 30 мл 3–4 дня. Общее количество получивших лечение больных неизвестно, но отмечается, что из них умерли только два человека. Еще один опыт фаготерапии отечественными бактериофагами состоялся в 1960 г. при ликвидации эпидемии холеры в Афганистане, куда были направлены советские микробиологи З.А. Планкина и А.Г. Никонов. ХВ вводились внутримышечно и перорально. Уже на девятый день от начала их использования в королевской больнице и холерном госпитале Кабула с холерой удалось справиться. При этом смертность больных холерой снизилась с 50 % после лечения окситетрациклином до 3,5 % [50]. К сожалению, ученые не ставили своей целью доказать эффективность полученных ими бактериофагов и не создавали контрольных групп (группа больных, которым не вводится лекарство), что казалось им аморальным в условиях эпидемии. Это сделало невозможной оценку результатов воздействия фага на больных.

В 1970 и 1971 гг. Всемирная организация здравоохранения инициировала два масштабных исследования по фаготерапии холеры в Восточном Пакистане (ныне Бангладеш). Исследования проводились в соответствии с международными стандартами. Фаготерапия сравнивалась с терапией тетрациклином. Одно из исследований проводилось под патронажем Национальных институтов здравоохранения США смесью из четырех препаратов ХВ (I и IV группы Mukerjee, фаг 326 и фаг 268), содержащих более $2 \cdot 10^{12}$ фаговых частиц/мл [51]. Второе исследование проводилось при поддержке Министерства здравоохранения СССР смесью из четырех классических ХВ (типа А, С и D из коллекции

Ашешова, а также I группа Мукерджи) и пяти ХБ эльтор (типа А, В и D из коллекции Ашешова, а также II и XII группы Мукерджи), содержащих от 10^8 до 10^9 фаговых частиц/мл [52]. Исследования показали, что бактериофаги и в средних (от 10^8 до 10^9 фаговых частиц/мл), и в очень высоких дозах ($2 \cdot 10^{12}$ фаговых частиц/мл) уступали в терапевтическом воздействии тетрациклину [51, 52].

После этих исследований мероприятия по фаготерапии и фагопрофилактике холеры в России и за рубежом практически не проводились.

В настоящее время для лечения холеры применяется регидратация и антибиотикотерапия, позволяющие сократить продолжительность заболевания, снизить интенсивность клинических проявлений и уровень смертности. Тем не менее широкое и не всегда обоснованное использование антибиотиков привело к появлению штаммов ХВ, устойчивых к большинству современных антибиотиков. В связи с этим бактериофаги, которые в эру антибиотиков практически перестали применяться, в настоящее время вновь становятся актуальной темой для изучения.

Механизм действия фагов значительно отличается от действия АБ. В отличие от АБ фаги обладают высокой специфичностью, не вызывают развитие токсикоза, аллергии и дисбактериоза. Фаги способны поражать АБ-устойчивые штаммы, разрушать биопленку и быстро попадать в очаг воспаления и также быстро элиминироваться из организма при исчезновении чувствительных к ним штаммов. Для лечения холеры обычно предлагаются фаговые коктейли, состоящие из нескольких рас ХВ [41, 49, 53–55]. Кроме того, фаги могут применяться вместе с другими препаратами, в том числе и с АБ. Однако при повторном применении у одного и того же больного через 2–3 недели ХВ часто становятся неэффективны, так как макроорганизм может вырабатывать против них антитела [56].

Существуют определенные требования к терапевтическим фаговым препаратам. Они должны содержать значительное количество ФЧ, не включать гены умеренных фагов, лизаты бактерий и продукты их жизнедеятельности. Необходимо, чтобы фаги, входящие в фаговый коктейль, были секвенированы, обладали высокой литической и репликативной активностями, сохраняющимися длительное время [57].

К сожалению, нам не удалось найти данных об опыте применения фаготерапии холеры на людях в современный период. Однако на сегодняшний день разработано несколько фагов и фаговых коктейлей, которые прошли лабораторные испытания на животных и показали свою эффективность. Один из таких фаговых коктейлей, состоящий из пяти фагов (В1, В2, В3, В4 и В5), был предложен А. Jaiswal *et al.* [53], которые на модели RITARD доказали его эффективность против *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор. При этом авторы отмечают, что литическая активность коктейля из фагов быстрее снижает количество ХВ по сравнению с отдельными фагами, а эффективность

от введения фагового препарата после перорального заражения бактериями значительно выше, чем обработка фагами до заражения. Другой коктейль, содержащий три фага (ICP1, ICP2 и ICP3), был протестирован на лабораторных животных (мышьях и кроликах) и показал значительное снижение колонизации и клинических проявлений у лабораторных животных [49]. Еще один фаг, Phi_1, выделенный в Китае, также был испытан на модели кроликов-сосунков. При этом у животных, обработанных фагами, не наблюдалось клинических признаков заболевания и не выделено ни одного бактериального мутанта, устойчивого к фагам [54]. А.К. Chakrabarti *et al.* также предлагают использовать для фаготерапии фаги N4, S5, S20, M4, D10, которые применяются для фаготипирования [55].

Поиски фагов, которые могли бы использоваться для фаготерапии, ведутся и в нашей стране. В настоящее время предложены два фага (Rostov-M3 и Rostov-13), один из которых обладает лизирующей активностью только против штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор (97 %), второй – против обоих биоваров (83 %) [41]. Указанные фаги протестированы на белых мышьях и на модели изолированной петли взрослых кроликов. Показано, что пятидневное использование указанных фагов по отдельности и в виде коктейля предотвращает развитие холеры у экспериментальных животных [58–60].

Таким образом, бактериофаги в настоящее время рассматриваются как альтернатива АБ. В то же время существует реальная возможность и другого, более продуктивного подхода: совместного использования бактериофагов и АБ.

Исследования показывают, что взаимодействие АБ и бактериофагов может приводить как к сложению (аддитивный эффект) и умножению (синергия) их эффектов, или PAS (от phage-antibiotic synergy), так и к их антагонизму. Это следует учитывать при разработке комплексных препаратов.

Существует несколько механизмов PAS. Один из них состоит в том, что под действием β -лактамов и хинолонов может наблюдаться удлинение БК (филаментация) за счет многократного деления клетки без ее разделения. Подобная стратегия приводит к повышению устойчивости к АБ и фагоцитам, которые не могут проглотить образовавшуюся гигантскую клетку. В то же время устойчивость к фагам снижается за счет утончения клеточной стенки, что делает клетку более чувствительной к фагам [4].

Другой механизм, вызывающий PAS при совместном применении фагов и АБ, состоит в увеличении размера фаговых бляшек на бактериальном газоне, то есть в усилении заражения бактерий фагами за счет повышения продукции ФЧ (увеличение всплеска). Такой эффект наблюдался при действии кларитромицина, линезолида, цефотаксима, тетрациклина и ципрофлоксацина [5].

Кроме того, совместное применение АБ и фага приводит к возможности уменьшения дозы АБ, повы-

шению чувствительности к ним, а также к снижению количества АБ- и фагоустойчивых мутантов [4, 6].

Еще один механизм PAS состоит в деполимеризации фаговыми ферментами (гликандеполимеразами) бактериальных полисахаридов, включая экзополисахаридные соединения БК и бактериальные биопленки, что облегчает фагам проникновение в клетку и параллельно увеличивает диффузию АБ [7].

Причины антагонизма при совместном использовании АБ и фагов также связывают с несколькими механизмами. Одним из них является подавление АБ репликации фагов за счет понижения плотности клеточной популяции. Дело в том, что индукция и репликация фага напрямую связаны с системой quorum sensing (QS) бактерий, отвечающей за экспрессию бактериальных генов, образование биопленки, выработку токсинов и т.д. Оказалось, что сигнальные молекулы QS индуцируют профаги, способствуя их репликации. Установлено, что для репликации бактериофагу требуется определенная минимальная плотность бактерий (порог пролиферации) [8]. АБ способствуют гибели части БК, в результате чего плотность их популяции снижается, что препятствует индукции и репликации фага.

Другой механизм, с которым может быть связан антагонизм фагов и АБ, заключается в ингибировании некоторыми АБ, такими как тобрамицин, рибосомального синтеза, который требуется для синтеза фаговых белков, необходимых для сборки фаговых частиц [4]. Показано также, что при использовании фагов совместно с налидиксовой кислотой и новобиоцином, которые ингибируют субъединицы ДНК-гиразы А и В соответственно, также наблюдалось подавление репликации фагов [9]. Подавление фаговой активности наблюдалось и при совместном использовании некоторых фагов и рифампицина, что связано с воздействием этого АБ на РНК-полимеразу. Следует, однако, отметить, что подобное негативное влияние АБ характерно не для всех фагов. Так, фаги, синтезирующие собственную ДНК-гиразу или РНК-полимеразу, будут резистентны к действию АБ. То есть при подборе пары АБ – фаг, следует учитывать характер действия АБ и чувствительность к этому действию фага.

Таким образом, в настоящее время ведется поиск холерных бактериофагов, перспективных для терапевтического и профилактического применения. Продолжается изучение совместного применения фагов и антибиотиков. Вероятно, будущее именно за этим направлением, которое позволит врачам и ученым, комбинируя различные антибиотики и фаги, подбирать наиболее действенный механизм для лечения холеры.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Иконникова Н.В. Бактериофаги – вирусы бактерий. Минск: ИВЦ Минфина; 2017. 41 с.
2. Адамов А.К., Наумшина М.С. Холерные вибрионы. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та; 1984. 328 с.
3. Ломов Ю.М., Сомова А.Г., Кудрякова Т.А. Холерные фаги. Ростов н/Д; 1990. 160 с.
4. Łusiak-Szelachowska M., Mędrybrodzki R., Drulis-Kawa Z., Cater K., Knežević P., Winogradow C., Amaro K., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Rękas J., Górski A. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. *J. Biomed. Sci.* 2022; 29(1):23. DOI: 10.1186/s12929-022-00806-1.
5. Li X., Hu T., Wei J., He Y., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. Characterization of a novel bacteriophage Henu2 and evaluation of the synergistic antibacterial activity of phage-antibiotics. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10(2):174. DOI: 10.3390/antibiotics10020174.
6. Li X., He Y., Wang Z., Wei J., Hu T., Si J., Tao G., Zhang L., Xie L., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. A combination therapy of phages and antibiotics: two is better than one. *Int. J. Biol. Sci.* 2021; 17(13):3573–82. DOI: 10.7150/ijbs.60551.
7. Drulis-Kawa Z., Majkowska-Skrobek G., Maciejewska B. Bacteriophages and phage-derived proteins – application approaches. *Curr. Med. Chem.* 2015; 22(14):1757–73. DOI: 10.2174/0929867322666150209152851.
8. Payne R.J., Jansen V.A. Evidence for a phage proliferation threshold? *J. Virol.* 2002; 76(24):13123–4. DOI: 10.1128/jvi.76.24.13123-13124.2002.
9. Alonso J.C., Sarachu A.N., Grau O. DNA gyrase inhibitors block development of *Bacillus subtilis* bacteriophage SP01. *J. Virol.* 1981; 39(3):855–60. DOI: 10.1128/JVI.39.3.855-860.1981.
10. Abedon S.T., Thomas-Abedon C., Thomas A., Mazure H. Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference? *Bacteriophage*. 2011; 1(3):174–8. DOI: 10.4161/bact.1.3.16591.
11. Летаров А.В. История ранних исследований бактериофагов и рождение основных концепций в вирусологии. *Биохимия*. 2020; 85(9):1189–212. DOI: 10.31857/S0320972520090031.
12. Горшенин А.В. Участие микробиологов З.В. Ермольевой и Л.М. Якобсон в научной дискуссии о судьбе производства советских холерных бактериофагов в 1967 году. *Самарский научный вестник*. 2021; 10(4):201–7. DOI: 10.17816/snv2021104211.
13. Krupovic M., Prangishvili D., Hendrix R.W., Bamford D.H. Genomics of bacterial and archaeal viruses: dynamics within the prokaryotic virosphere. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2011; 75(4):610–35. DOI: 10.1128/MMBR.00011-11.
14. Waldor M.K., Mekalanos J.J. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholerae toxin. *Science*. 1996; 272(5270):1910–4. DOI: 10.1126/science.272.5270.1910.
15. Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.
16. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Швиденко И.Г., Савельев В.Н. Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 бивара Эль Тор. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.
17. Giri N. Bacteriophage structure, classification, assembly and phage therapy. *Biosci. Biotech. Res. Asia*. 2021; 18(2):239–50. DOI: 10.13005/bbra/2911.
18. Ильина Т.С. Нитчатые бактериофаги и их роль в вирулентности и эволюции патогенных бактерий. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2015; 1:3–10. DOI: 10.3103/S0891416815010036.
19. Phage Population Dynamics. In: Nicastrò J., Wong S., Khazaei Z., Lam P., Blay J., Slavcev R.A. Bacteriophage Applications – Historical Perspective and Future Potential. Part of SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology. Springer; 2016. P. 44–5. DOI: 10.1007/978-3-319-45791-8_5.
20. Turner D., Shkoporov A.N., Lood C., Millard A.D., Dutilh B.E., Alfenas-Zerbini P., van Zyl L.J., Aziz R.K., Oksanen H.M., Poranen M.M., Kropinski A.M., Barylski J., Brister J.R., Chanisvili N., Edwards R.A., Enault F., Gillis A., Knezevic P., Krupovic M., Kurtböke I., Kushkina A., Lavigne R., Lehman S., Lobočka M., Moraru C., Moreno Switt A., Morozova V., Nakavuma J., Reyes Muñoz A., Rümnieks J., Sarkar B.L., Sullivan M.B., Uchiyama J., Wittmann J., Yigang T., Adriaenssens E.M. Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Arch. Virol.* 2023; 168(2):74. DOI: 10.1007/s00705-022-05694-2.
21. Casjens S.R., Gilcrease E.B. Determining DNA packaging strategy by analysis of the termini of the chromosomes in tailed-bacteriophage virions. *Methods Mol. Biol.* 2009; 502:91–111. DOI: 10.1007/978-1-60327-565-1_7.
22. Shen X., Zhang J., Xu J., Du P., Pang B., Li J., Kan B. The resistance of *Vibrio cholerae* O1 El Tor Strains to the typing

phage 919TP, a member of K139 phage family. *Front. Microbiol.* 2016; 7:726. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00726.

23. LeGault K.N., Hays S.G., Angermeyer A., McKitterick A.C., Johura F.T., Sultana M., Ahmed T., Alam M., Seed K.D. Temporal shifts in antibiotic resistance elements govern phage-pathogen conflicts. *Science.* 2021; 373(6554):eabg2166. DOI: 10.1126/science.abg2166.

24. Catalão M.J., Gil F., Moniz-Pereira J., São-José C., Pimentel M. Diversity in bacterial lysis systems: bacteriophages show the way. *FEMS Microbiol. Rev.* 2013; 37(4):554–71. DOI: 10.1111/1574-6976.12006.

25. Hays S.G., Seed K.D. Dominant *Vibrio cholerae* phage exhibits lysis inhibition sensitive to disruption by a defensive phage satellite. *Elife.* 2020; 9:e53200. DOI: 10.7554/eLife.53200.

26. Loh B., Kuhn A., Leptihn S. The fascinating biology behind phage display: filamentous phage assembly. *Mol. Microbiol.* 2019; 111(5):1132–8. DOI: 10.1111/mmi.14187.

27. Rakonjac J., Bennett N.J., Spagnuolo J., Gagic D., Russel M. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2011; 13(2):51–76.

28. Смирнова Н.И., Кулышань Т.А., Челдышова Н.Б., Осин А.В. Структурные и функциональные изменения генома возбудителя холеры в водной среде. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2007; 5:22–8.

29. Pathania A., Hopper C., Pandi A., Függer M., Nowak T., Kushwaha M. A synthetic communication system uncovers extracellular immunity that self-limits bacteriophage transmission. *bioRxiv.* 2022; 5(11):1–29. DOI: 10.1101/2022.05.11.491355.

30. Lenski R.E. Dynamics of interactions between bacteria and virulent bacteriophage. In: Marshall K.C., editor. *Advances in Microbial Ecology.* 1988. Vol. 10. P. 1–44. DOI: 10.1007/978-1-4684-5409-3_1.

31. Davis B.M., Kimsey N.H., Kane A.V., Waldor M.K. A satellite phage-encoded antirepressor induces repressor aggregation and cholera toxin gene transfer. *EMBO J.* 2002; 21(16):4240–9. DOI: 10.1093/emboj/cdf427.

32. Zingl F.G., Kohl P., Bakar F., Leitner D.R., Mitterer F., Bonnington K.E., Rechberger G.N., Kuehn M.J., Guan Z., Reidl J., Schild S. Outer membrane vesiculation facilitates surface exchange and *in vivo* adaptation of *Vibrio cholerae*. *Cell Host Microbe.* 2020; 27(2):225–237.e8. DOI: 10.1016/j.chom.2019.12.002.

33. Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(1):249–63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.

34. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Челдышова Н.Б. Анализ антифаговых систем в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО.* 2023; 31(11):94–100. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-94-100.

35. Goldfarb T., Sberro H., Weinstock E., Cohen O., Doron S., Charpak-Amikam Y., Afik S., Ofir G., Sorek R. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes. *EMBO J.* 2015; 34(2):169–83. DOI: 10.15252/embj.201489455.

36. Lopatina A., Tal N., Sorek R. Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy. *Annu. Rev. Virol.* 2020; 7(1):371–84. DOI: 10.1146/annurev-virology-011620-040628.

37. Barth Z.K., Nguyen M.H., Seed K.D. A chimeric nuclease substitutes a phage CRISPR-Cas system to provide sequence-specific immunity against subviral parasites. *Elife.* 2021; 10:e68339. DOI: 10.7554/eLife.68339.

38. Petrov V.M., Ratnayaka S., Nolan J.M., Miller E.S., Karam J.D. Genomes of the T4-related bacteriophages as windows on microbial genome evolution. *Virol. J.* 2010; 7:292. DOI: 10.1186/1743-422X-7-292.

39. Seed K.D., Yen M., Shapiro B.J., Hilaire I.J., Charles R.C., Teng J.E., Camilli A. Evolutionary consequences of intra-patient phage predation on microbial populations. *Elife.* 2014; 3:e03497. DOI: 10.7554/eLife.03497.

40. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Аноприенко А.О., Романова Л.В., Тюрина А.В. Биологические свойства и генетическая характеристика экспериментальных диагностических бактериофагов *Vibrio cholerae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.

41. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Аноприенко А.О. Создание коллекций фагов патогенных вибрионов и ее применение в диагностических и профилактических целях. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова.* 2023; 19(3):37–45.

42. CDC. Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. [Электронный ресурс]. URL: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/52473/cdc_52473_DS1.pdf?download=document-submit=Download (дата обращения 27.02.2024).

43. Остроумова Н.М., Мороз В.П., Караваева Т.Б., Коровкина Г.И., Грачева И.В. Внутривидовая дифференциация *Vibrio cholerae* по иммунотипу их умеренных фагов на токсиген-

ные (Vct⁺) и нетоксигенные (Vct⁻) варианты. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1993; 4:116–20.

44. Chattopadhyay D.J., Sarkar B.L., Ansari M.Q., Chakrabarti B.K., Roy M.K., Ghosh A.N., Pal S.C. New phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31(6):1579–85. DOI: 10.1128/jcm.31.6.1579-1585.1993.

45. Sarkar B.L., De S.P., Saha M.R., Niyogi S.K., Roy M.K. Validity of new phage typing scheme against *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains. *Indian J. Med. Res.* 1994; 99:159–61.

46. Gao S., Wu S., Liu B. Characteristics of typing phages of *Vibrio cholerae* biotype El Tor. *Fu Huo Luan Zi Liao Hui Bian.* 1984; 4:237–45.

47. Chakrabarti A.K., Ghosh A.N., Nair G.B., Niyogi S.K., Bhattacharya S.K., Sarkar B.L. Development and evaluation of a phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O139. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(1):44–9. DOI: 10.1128/JCM.38.1.44-49.2000.

48. Rowe B., Frost J.A. *Vibrio* phages and phage-typing. In: Barua D., Greenough W.B., editors. *Cholera. Part of Current Topics in Infectious Disease.* Springer, Boston, MA; 1992. P. 95–105. DOI: 10.1007/978-1-4757-9688-9_5.

49. Yen M., Camilli A. Mechanisms of the evolutionary arms race between *Vibrio cholerae* and *Vibriophage* clinical isolates. *Int. Microbiol.* 2017; 20(3):116–20. DOI: 10.2436/20.1501.01.292.

50. Планкина З.А., Никонов А.Г., Саямов Р.М., Котлярова Р.И. Борьба с холерой в Афганистане. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1961; 32:202–4.

51. Monsur K.A., Rahman M.A., Huq F., Islam M.N., Northrup R.S., Hirschhorn N. Effect of massive doses of bacteriophage on excretion of vibrios, duration of diarrhoea and output of stools in acute cases of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1970; 42(5):723–32.

52. Marcuk L.M., Nikiforov V.N., Scerbak J.F., Levitov T.A., Kotlarova R.I., Naumsina M.S., Dovydiv S.U., Monsur K.A., Rahman M.A., Latif M.A., Northrup R.S., Cash R.A., Huq I., Dey C.R., Phillips R.A. Clinical studies of the use of bacteriophage in the treatment of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1971; 45(1):77–83.

53. Jaiswal A., Koley H., Ghosh A., Palit A., Sarkar B. Efficacy of cocktail phage therapy in treating *Vibrio cholerae* infection in rabbit model. *Microbes Infect.* 2013; 15(2):152–6. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.11.002.

54. Bhandare S., Colom J., Baig A., Ritchie J.M., Bukhari H., Shah M.A., Sarkar B.L., Su J., Wren B., Barrow P., Atterbury R.J. Reviving phage therapy for the treatment of cholera. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(5):786–94. DOI: 10.1093/infdis/jiy563.

55. Chakrabarti A.K., Biswas A., Tewari D.N., Mondal P.P., Dutta S. Phage types of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains isolated from India during 2012–2017. *J. Glob. Infect. Dis.* 2020; 12(2):94–100. DOI: 10.4103/jgid.jgid_42_19.

56. Бочкарева С.С., Алешкин А.В., Ершова О.Н., Новикова Л.И., Караулов А.В., Киселева И.А., Зулькарнаев Э.Р., Рубальский Е.О., Зейгарник М.В. Гуморальный иммунный ответ на бактериофаги на фоне фаготерапии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). *Инфекционные болезни.* 2017; 15(1):35–40. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-1-35-40.

57. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза». [Электронный ресурс]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71446406/#review> (дата обращения 26.02.2024).

58. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Селянская Н.А., Егиязарян Л.А., Погожова М.П., Головин С.Н., Пасюкова Н.И. Активность препарата бактериофагов в отношении антибиотикорезистентных штаммов холерных вибрионов. *Антибиотики и химиотерапия.* 2018; 63(7-8):29–32.

59. Аноприенко А.О., Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погожова М.П. Создание экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова.* 2020; 16(3):10–3.

60. Иванова И.А., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Омельченко Н.Д., Филиппенко А.В., Труфанова А.А. Способ профилактики холеры с помощью бактериофагов. Патент РФ № 2783000, опубл. 08.11.2022. Бюл. № 31.

References

1. Ikonnikova N.V. [Bacteriophages are Bacterial Viruses]. Minsk: Information Accounting Center of the Ministry of Finance; 2017. 41 p.
2. Adamov A.K., Naumshina M.S. [Cholera Vibrios]. Saratov: Publishing house of the Saratov University; 1984. 328 p.
3. Lomov Yu.M., Somova A.G., Kudryakova T.A. [Cholera Phages]. Rostov-on-Don; 1990. 160 p.
4. Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Drulis-Kawa Z., Cater K., Knežević P., Winogradov C., Amaro K., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Rękas J., Górski A. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what

- we have learned so far. *J. Biomed. Sci.* 2022; 29(1):23. DOI: 10.1186/s12929-022-00806-1.
5. Li X., Hu T., Wei J., He Y., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. Characterization of a novel bacteriophage Henu2 and evaluation of the synergistic antibacterial activity of phage-antibiotics. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10(2):174. DOI: 10.3390/antibiotics10020174.
 6. Li X., He Y., Wang Z., Wei J., Hu T., Si J., Tao G., Zhang L., Xie L., Abdalla A.E., Wang G., Li Y., Teng T. A combination therapy of phages and antibiotics: two is better than one. *Int. J. Biol. Sci.* 2021; 17(13):3573–82. DOI: 10.7150/ijbs.60551.
 7. Drulis-Kawa Z., Majkowska-Skrobek G., Maciejewska B. Bacteriophages and phage-derived proteins – application approaches. *Curr. Med. Chem.* 2015; 22(14):1757–73. DOI: 10.2174/0929867322666150209152851.
 8. Payne R.J., Jansen V.A. Evidence for a phage proliferation threshold? *J. Virol.* 2002; 76(24):13123–4. DOI: 10.1128/jvi.76.24.13123-13124.2002.
 9. Alonso J.C., Sarachu A.N., Grau O. DNA gyrase inhibitors block development of *Bacillus subtilis* bacteriophage SP01. *J. Virol.* 1981; 39(3):855–60. DOI: 10.1128/JVI.39.3.855-860.1981.
 10. Abedon S.T., Thomas-Abedon C., Thomas A., Mazure H. Bacteriophage prehistory: Is or is not Hankin, 1896, a phage reference? *Bacteriophage*. 2011; 1(3):174–8. DOI: 10.4161/bact.1.3.16591.
 11. Letarov A.V. [History of early research on bacteriophages and the birth of basic concepts in virology]. *Biokhimiya [Biochemistry]*. 2020; 85(9):1189–212. DOI: 10.31857/S0320972520090031.
 12. Gorshenin A.V. [Participation of microbiologists, Z.V. Ermol'eva and L.M. Yakobson, in a scientific discussion about the fate of the production of Soviet cholera bacteriophages in 1967]. *Samarsky Nauchny Vestnik [Samara Scientific Bulletin]*. 2021; 10(4):201–7. DOI: 10.17816/snv2021104211.
 13. Krupovic M., Prangishvili D., Hendrix R.W., Bamford D.H. Genomics of bacterial and archaeal viruses: dynamics within the prokaryotic virosphere. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2011; 75(4):610–35. DOI: 10.1128/MMBR.00011-11.
 14. Waldor M.K., Mekalanos J.J. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholerae toxin. *Science*. 1996; 272(5270):1910–4. DOI: 10.1126/science.272.5270.1910.
 15. Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.
 16. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Shvidenko I.G., Savel'ev V.N. [Detection of phage-induced mobile genetic elements in strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.
 17. Giri N. Bacteriophage structure, classification, assembly and phage therapy. *Biosci. Biotech. Res. Asia*. 2021; 18(2):239–50. DOI: 10.13005/bbra/2911.
 18. Ilyina T.S. [Filamentous bacteriophages and their role in the virulence and evolution of pathogenic bacteria]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2015; (1):3–10. DOI: 10.3103/S0891416815010036.
 19. Phage Population Dynamics. In: Nicastro J., Wong S., Khazaei Z., Lam P., Blay J., Slavcev R.A. Bacteriophage Applications – Historical Perspective and Future Potential. Part of SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology. Springer; 2016. P. 44–5. DOI: 10.1007/978-3-319-45791-8_5.
 20. Turner D., Shkoporov A.N., Lood C., Millard A.D., Dutilh B.E., Alfenas-Zerbini P., van Zyl L.J., Aziz R.K., Oksanen H.M., Poranen M.M., Kropinski A.M., Barylski J., Brister J.R., Chanisvili N., Edwards R.A., Enault F., Gillis A., Knezevic P., Krupovic M., Kurtböke I., Kushkina A., Lavigne R., Lehman S., Lobočka M., Moraru C., Moreno Switt A., Morozova V., Nakamura J., Reyes Muñoz A., Rümnieks J., Sarkar B.L., Sullivan M.B., Uchiyama J., Wittmann J., Yigang T., Adriaenssens E.M. Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Arch. Virol.* 2023; 168(2):74. DOI: 10.1007/s00705-022-05694-2.
 21. Casjens S.R., Gilcrease E.B. Determining DNA packaging strategy by analysis of the termini of the chromosomes in tailed-bacteriophage virions. *Methods Mol. Biol.* 2009; 502:91–111. DOI: 10.1007/978-1-60327-565-1_7.
 22. Shen X., Zhang J., Xu J., Du P., Pang B., Li J., Kan B. The resistance of *Vibrio cholerae* O1 El Tor Strains to the typing phage 919TP, a member of K139 phage family. *Front. Microbiol.* 2016; 7:726. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00726.
 23. LeGault K.N., Hays S.G., Angermeyer A., McKitterick A.C., Johura F.T., Sultana M., Ahmed T., Alam M., Seed K.D. Temporal shifts in antibiotic resistance elements govern phage-pathogen conflicts. *Science*. 2021; 373(6554):eabg2166. DOI: 10.1126/science.abg2166.
 24. Catalão M.J., Gil F., Moniz-Pereira J., São-José C., Pimentel M. Diversity in bacterial lysis systems: bacteriophages show the way. *FEMS Microbiol. Rev.* 2013; 37(4):554–71. DOI: 10.1111/1574-6976.12006.
 25. Hays S.G., Seed K.D. Dominant *Vibrio cholerae* phage exhibits lysis inhibition sensitive to disruption by a defensive phage satellite. *Elife*. 2020; 9:e53200. DOI: 10.7554/eLife.53200.
 26. Loh B., Kuhn A., Leptihn S. The fascinating biology behind phage display: filamentous phage assembly. *Mol. Microbiol.* 2019; 111(5):1132–8. DOI: 10.1111/mmi.14187.
 27. Rakonjac J., Bennett N.J., Spagnuolo J., Gagic D., Russel M. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2011; 13(2):51–76.
 28. Smirnova N.I., Kul'shan T.A., Cheldyshova N.B., Osin A.V. [Structural and functional changes in the genome of the cholera agent in the aquatic environment]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2007; (5):22–8.
 29. Pathania A., Hopper C., Pandi A., Függer M., Nowak T., Kushwaha M. A synthetic communication system uncovers extracellular immunity that self-limits bacteriophage transmission. *bioRxiv*. 2022; 5(11):1–29. DOI: 10.1101/2022.05.11.491355.
 30. Lenski R.E. Dynamics of interactions between bacteria and virulent bacteriophage. In: Marshall K.C., editor. *Advances in Microbial Ecology*. 1988. Vol. 10. P. 1–44. DOI: 10.1007/978-1-4684-5409-3_1.
 31. Davis B.M., Kimsey H.H., Kane A.V., Waldor M.K. A satellite phage-encoded antirepressor induces repressor aggregation and cholera toxin gene transfer. *EMBO J.* 2002; 21(16):4240–9. DOI: 10.1093/emboj/cdf427.
 32. Zingl F.G., Kohl P., Cakar F., Leitner D.R., Mitterer F., Bonnington K.E., Rechberger G.N., Kuehn M.J., Guan Z., Reidl J., Schild S. Outer membrane vesiculation facilitates surface exchange and *in vivo* adaptation of *Vibrio cholerae*. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(2):225–237.e8. DOI: 10.1016/j.chom.2019.12.002.
 33. Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(1):249–63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.
 34. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Cheldyshova N.B. [Analysis of anti-phage systems in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2023; 31(11):94–100. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-94-100.
 35. Goldfarb T., Sberro H., Weinstock E., Cohen O., Doron S., Charpak-Amikam Y., Afik S., Ofir G., Sorek R. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes. *EMBO J.* 2015; 34(2):169–83. DOI: 10.15252/embj.201489455.
 36. Lopatina A., Tal N., Sorek R. Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy. *Annu. Rev. Virol.* 2020; 7(1):371–84. DOI: 10.1146/annurev-virology-011620-040628.
 37. Barth Z.K., Nguyen M.H., Seed K.D. A chimeric nuclease substitutes a phage CRISPR-Cas system to provide sequence-specific immunity against subviral parasites. *Elife*. 2021; 10:e68339. DOI: 10.7554/eLife.68339.
 38. Petrov V.M., Ratnayaka S., Nolan J.M., Miller E.S., Karam J.D. Genomes of the T4-related bacteriophages as windows on microbial genome evolution. *Viol. J.* 2010; 7:292. DOI: 10.1186/1743-422X-7-292.
 39. Seed K.D., Yen M., Shapiro B.J., Hilaire I.J., Charles R.C., Teng J.E., Camilli A. Evolutionary consequences of intra-patient phage predation on microbial populations. *Elife*. 2014; 3:e03497. DOI: 10.7554/eLife.03497.
 40. Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Anoprienko A.O., Romanova L.V., Tyurina A.V. [Biological properties and genetic characteristics of experimental diagnostic *Vibrio cholerae* bacteriophages]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(3):290–7. DOI: 10.36233/0372-9311-39.
 41. Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Anoprienko A.O. [Creation of a collection of pathogenic vibrio phages and its use for diagnostic and preventive purposes]. *Vestnik Biotechnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physico-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2023; 19(3):37–45.
 42. CDC. Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. (Cited 27 Feb 2024). [Internet]. Available from: https://stacks.cdc.gov/view/cdc/52473/cdc_52473_DS1.pdf?download=document-submit=Download.
 43. Ostroumova N.M., Moroz V.P., Karavaeva T.B., Korovkina G.I., Gracheva I.V. [Intraspecific differentiation of *Vibrio cholerae* into toxigenic (Vct⁺) and non-toxigenic (Vct⁻) variants according to the immunotype of their temperate phages]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1993; (4):116–20.
 44. Chattopadhyay D.J., Sarkar B.L., Ansari M.Q., Chakrabarti B.K., Roy M.K., Ghosh A.N., Pal S.C. New phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31(6):1579–85. DOI: 10.1128/jcm.31.6.1579-1585.1993.

45. Sarkar B.L., De S.P., Saha M.R., Niyogi S.K., Roy M.K. Validity of new phage typing scheme against *Vibrio cholerae* O1 biotype ElTor strains. *Indian J. Med. Res.* 1994; 99:159–61.
46. Gao S., Wu S., Liu B. Characteristics of typing phages of *Vibrio cholerae* biotype El Tor. *Fu Huo Luan Zi Liao Hui Bian.* 1984; 4:237–45.
47. Chakrabarti A.K., Ghosh A.N., Nair G.B., Niyogi S.K., Bhattacharya S.K., Sarkar B.L. Development and evaluation of a phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O139. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(1):44–9. DOI: 10.1128/JCM.38.1.44-49.2000.
48. Rowe B., Frost J.A. *Vibrio* phages and phage-typing. In: Barua D., Greenough W.B., editors. *Cholera. Part of Current Topics in Infectious Disease.* Springer, Boston, MA; 1992. P. 95–105. DOI: 10.1007/978-1-4757-9688-9_5.
49. Yen M., Camilli A. Mechanisms of the evolutionary arms race between *Vibrio cholerae* and *Vibriophage* clinical isolates. *Int. Microbiol.* 2017; 20(3):116–20. DOI: 10.2436/20.1501.01.292.
50. Plankina Z.A., Nikonov A.G., Sayamov R.M., Kotlyarova R.I. [Fighting cholera in Afghanistan]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1961; (32):202–4.
51. Monsur K.A., Rahman M.A., Huq F., Islam M.N., Northrup R.S., Hirschhorn N. Effect of massive doses of bacteriophage on excretion of vibrios, duration of diarrhoea and output of stools in acute cases of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1970; 42(5):723–32.
52. Marcuk L.M., Nikiforov V.N., Scerbak J.F., Levitov T.A., Kotljarkova R.I., Naumsina M.S., Dovydov S.U., Monsur K.A., Rahman M.A., Latif M.A., Northrup R.S., Cash R.A., Huq I., Dey C.R., Phillips R.A. Clinical studies of the use of bacteriophage in the treatment of cholera. *Bull. World Health Organ.* 1971; 45(1):77–83.
53. Jaiswal A., Koley H., Ghosh A., Palit A., Sarkar B. Efficacy of cocktail phage therapy in treating *Vibrio cholerae* infection in rabbit model. *Microbes Infect.* 2013; 15(2):152–6. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.11.002.
54. Bhandare S., Colom J., Baig A., Ritchie J.M., Bukhari H., Shah M.A., Sarkar B.L., Su J., Wren B., Barrow P., Atterbury R.J. Reviving phage therapy for the treatment of cholera. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(5):786–94. DOI: 10.1093/infdis/jiy563.
55. Chakrabarti A.K., Biswas A., Tewari D.N., Mondal P.P., Dutta S. Phage types of *Vibrio cholerae* O1 biotype ElTor strains isolated from India during 2012–2017. *J. Glob. Infect. Dis.* 2020; 12(2):94–100. DOI: 10.4103/jgid.jgid_42_19.
56. Bochkareva S.S., Aleshkin A.V., Ershova O.N., Novikova L.L., Karaulov A.V., Kiseleva I.A., Zul'karneev E.R., Rubal'sky E.O., Zeigarnik M.V. [Humoral immune response to bacteriophages during phage therapy of healthcare-associated infections (HAIs)]. *Infektsionnye Bolezni [Infectious Diseases]*. 2017; 15(1):35–40. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-1-35-40.
57. [Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 3, 2016 No. 89 “On approval of the Rules for conducting research on biological medicinal products of the Eurasian Economic Union”]. (Cited 26 Feb 2024). [Internet]. Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71446406/#review>.
58. Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Selyanskaya N.A., Egiazaryan L.A., Pogozhova M.P., Golovin S.N., Pasyukova N.I. [Activity of the bacteriophage preparation against antibiotic-resistant strains of *Vibrio cholerae*]. *Antibiotiki i Khimioterapiya [Antibiotics and Chemotherapy]*. 2018; 63(7-8):29–32.
59. Anoprienko A.O., Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Pogozhova M.P. [Creation of an experimental prophylactic drug based on cholera bacteriophages]. *Vestnik Biotehnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2020; 16(3):10–3.
60. Ivanova I.A., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Omel'chenko N.D., Filippenko A.V., Trufanova A.A. Method for preventing cholera using bacteriophages. RF Patent No. 2783000, publ. 08 Nov 2022. Bull. No. 31.

Authors:

Cheldyshova N.B., Zadnova S.P., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Devdariani Z.L. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Челдышова Н.Б., Заднова С.П., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Девдариани З.Л. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.