

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-129-136>

## Оценка соотношения результатов спот-тестов и тестов бляшкообразующей активности бактериофагов актуальных патогенов

И. М. Пчелин\*<sup>1</sup>, Д. В. Азаров<sup>1,2</sup>, В. А. Дедик<sup>1</sup>, Д. А. Кушниренко<sup>1</sup>, Б. И. Асланов<sup>2</sup>,  
А. Е. Гончаров<sup>1,2</sup>, Д. А. Лиознов<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

### Резюме

**Актуальность.** Получение чистых пятен лизиса, с допущением наличия отдельных колоний вторичного роста, в спот-тестах является критерием оценки эффективности терапевтических бактериофагов. Вместе с тем известен ряд механизмов, по которым происходит фаговый лизис бактерий на газонах, не сопровождающийся репликацией вируса. **Цель.** Оценка соотношения результатов спот-тестов и тестов, основанных на выявлении негативных колоний бактериофагов. **Вывод.** Проанализированы данные из 21 статьи о 43 бактериофагах. В пределах рассмотренной выборки наблюдение чистых зон лизиса в 94% случаев соответствовало успешной репликации вируса. Для ряда бактериофагов *Escherichia coli* было выявлено большее число спот-тестов категории «++++», по сравнению с числом штаммов, поддерживающих репликацию вируса, что, в рамках оценки литической активности терапевтического бактериофага, может быть охарактеризовано как ложноположительные результаты спот-теста. В целом наблюдение чистых пятен лизиса на спот-тесте в большинстве случаев указывает на репликацию бактериофага, что позволяет рассматривать метод спот-теста как ориентировочный, но требующий последующие валидации более сложными методами, характеризующими эффективность фаговой репликации.

**Ключевые слова:** обзор литературы, бактериофаги, спектр литической активности, анализ вирусных бляшек, колифаги, фаготерапия

Конфликт интересов не заявлен.

**Для цитирования:** Пчелин И. М., Азаров Д. В., Дедик В. А. и др. Оценка соотношения результатов спот-тестов и тестов бляшкообразующей активности бактериофагов актуальных патогенов. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2024;23(6):129-136. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-6-129-136>

### Evaluation of the Ratio of Spot Tests and Plaque-Forming Activity Tests of Bacteriophages of Prevalent Pathogens

IM Pchelin\*\*<sup>1</sup>, DV Azarov<sup>1,2</sup>, VA Dedik<sup>1</sup>, DA Kushnirenko<sup>1</sup>, BI Aslanov<sup>2</sup>, AE Goncharov<sup>1,2</sup>, DA Lioznov<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup>Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia.

<sup>4</sup>First Pavlov State Medical University, Saint Petersburg, Saint Petersburg, Russia

### Abstract

**Relevance.** Obtaining clean lysis spots, with tolerable presence of individual colonies of secondary growth, in spot tests is a criterion for assessing the effectiveness of therapeutic bacteriophages. At the same time, a number of mechanisms are known by which phage lysis of bacteria on lawns occurs without being accompanied by virus replication. **Aim.** To assess the ratio of spot test results and tests based on the detection of negative bacteriophage colonies. **Conclusion.** Data on 43 bacteriophages extracted

\* Для переписки: Пчелин Иван Михайлович, к. б. н., научный сотрудник лаборатории функциональной геномики и протеомики микроорганизмов, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Россия, 197376, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12. +7 (812) 234-05-42, [arcella.oraia@gmail.com](mailto:arcella.oraia@gmail.com). ©Пчелин И. М. и др.

\*\* For correspondence: Pchelin Ivan M., Cand. Sci. (Biol.), Researcher at the Laboratory of Functional Genomics and Proteomics of Microorganisms, Institute of Experimental Medicine, 12, Ac. Pavlova str., Saint Petersburg, 197376, Russia. +7 (812) 234-05-42, [arcella.oraia@gmail.com](mailto:arcella.oraia@gmail.com). ©Pchelin IM, et al.

from 21 articles were analyzed. Within the studied sample, the observation of clean lysis zones in 94% of cases corresponded to successful virus replication. For a number of *Escherichia coli* bacteriophages, a greater number of spot tests of the "++++" category were detected compared to the number of strains supporting virus replication, which, within the framework of assessing the lytic activity of a therapeutic bacteriophage, can be characterized as false positive spot test results. In general, the observation of clear lysis spots on the spot test in most cases indicates bacteriophage replication, which allows us to consider the spot test method as indicative, but requiring subsequent validation by more complex methods characterizing the efficiency of phage replication.

**Keywords:** review, bacteriophages, host range, viral plaque assay, coliphages, phage therapy

No conflict of interest to declare.

**For citation:** Pchelin IM, Azarov DV, Dedik VA et al. Evaluation of the ratio of spot tests and plaque-forming activity tests of bacteriophages of prevalent pathogens. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(6):129-136 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2024-23-6-129-136>

## Введение

В начале XX века фаготерапия стала исторически первым подходом к этиотропной терапии инфекционных заболеваний. В течение двух десятилетий были сформулированы основы медицинского применения фагов, включающие понимание необходимости тестирования литической активности фаговых препаратов, решение вопроса о создании в очаге инфекции достаточной рабочей концентрации препарата, а также важность учета феномена фагорезистентности [1]. Уже к середине XX столетия лечение инфекционных заболеваний бактериофагами в той или иной степени уступило место антибиотикотерапии. В меньшей степени сворачивание фагового направления медицины коснулось СССР [2,3] и в большей – стран Запада, хотя, например, во Франции использование фагов не прерывалось [4]. Причинами снижения интереса к фаготерапии, в частности, стали ее неоднозначные результаты, обусловленные недооценкой специфичности фагов и недостаточными знаниями о процессе репликации бактериофагов [5].

На рубеже XX и XXI веков человечество вступило в «постантибиотическую» эру, характеризующуюся нарастающей резистентностью бактерий ко всем существующим классам антибиотиков и снижением как числа организаций, финансирующих разработку новых антибактериальных препаратов, так и общего объема инвестиций [6,7]. По некоторым оценкам, смертность, ассоциированная с резистентностью к антимикробным препаратам, достигнет к 2050 г. уровня смертности от рака [8,9], эта проблема выходит на одно из первых мест в ряду вызовов здравоохранению. Это, а также научный и технологический прогресс в области исследования фагов послужили основой для возрождения фаготерапии с конца 1990-х годов.

Снижение наблюдаемой эффективности при переходе от тестов *in vitro* к смоделированным инфекциям, затем к реальным клиническим случаям и рандомизированным контролируемым исследованиям (РКИ) указывает на необходимость дополнительных исследований, направленных на улучшение дизайна РКИ и повышение предсказуемости исходов терапии [5,10,11]. Одним из актуальных направлений развития доказательной фаготера-

пии является совершенствование методов тестирования литической активности. Условно можно выделить три основных стратегии тестирования фагов. Эмпирический опыт сотрудников центра Элиавы в Тбилиси (Грузия) указывает на то, что эффективный терапевтический фаг должен проявлять стабильный лизис бактериальной культуры на протяжении как минимум 24 часов, при соотношении числа вирионов к числу бактериальных клеток не более 1:1 [12]. Второй подход основан на всестороннем описании фаговой активности, включая определение бляшкообразующей активности, профиль лизиса в жидкой среде и тестирование бактерицидной активности [13]. Наконец, третий подход, включающий тестирование литической и бляшкообразующей активностей на твердых средах, иногда с определением титра активного бактериофага [14].

Считается, что одним из основных преимуществ фаготерапии является размножение активного компонента препаратов в очаге инфекции. Вместе с тем наиболее широко применяемый подход к тестированию медицинских бактериофагов основан на определении литической активности спот-тестом. Из всех методов тестирования литической активности бактериофагов прямой метод спот-теста наименее трудоемкий и времязатратный. В соответствии с методическими рекомендациями «Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике», фаговый препарат может быть использован, если после его нанесения на газон бактерий наблюдается чистое пятно лизиса, с допущением до 15 колоний вторичного роста бактерий на месте капли [15]. Однако прогностическая значимость спот-теста в отношении способности активного компонента фагового препарата к репликации остается неоднозначной. В частности, явление лизиса снаружи, случаи abortивной инфекции и активность свободных литических ферментов фаголизата могут обуславливать получение ложноположительных результатов [16]. Чтобы прояснить вопрос о связи между бляшкообразующей активностью, характеризующей успешность репликации фагов, и результатами спот-тестов, в настоящей работе было проведено сравнение числа положительных тестов

бляшкообразующей активности с числом спот-тестов, показавших полный лизис бактериальных культур для конкретных бактериофагов, представителей наиболее хорошо изученных таксономических групп.

Поиск литературы был осуществлен с использованием баз данных NCBI PubMed и Scopus. Подробное описание методики поиска и отбора литературных данных приведено в нашем систематическом обзоре спектров литической активности бактериофагов [17]. В той же работе дается характеристика выборки бактериофагов и обосновывается выбор таксономических групп для анализа. Для целей данного обзора мы использовали описания вирулентных бактериофагов, содержащие одновременно результаты спот-тестов, дифференцированных по степени лизиса, и методов, основанных на выявлении негативных колоний вирусов, демонстрирующих реализацию литического цикла бактериофага, в частности, метод агаровых слоев по Грациа. Далее мы сгруппировали бактериофаги по таксонам и по видам бактерий. Для каждой группы сравнения было доступно не менее трех литературных источников.

Для вирусов были отобраны результаты, полученные на штаммах бактерий, относящихся в каждом случае к виду штамма-продуцента. Было подсчитано число штаммов, оказавшихся положительными в спот-тестах с максимальной степенью лизиса (чистые пятна), а также число штаммов, на которых образовывались негативные колонии вируса (событие репликации). Литературные источники, содержащие результаты спот-теста в бинарной записи, но указывающие на наблюдение чистых пятен лизиса во всех случаях, также были включены в настоящую работу. Итоговый набор данных содержал информацию о 43 бактериофагах, принадлежащих к семействам *Autographiviridae* (за исключением подсемейства *Studiervirinae*), *Drexlerviridae*, *Straboviridae* и подсемействам *Guernseyvirinae* и *Studiervirinae*. Данные, сгруппированные по таксонам фагов ( $n = 29$ ), пересекаются с данными по бактериям-хозяевам ( $n = 36$ ).

Соотношение результатов спот-тестов и тестов бляшкообразующей активности бактериофагов было представлено как доля случаев, в которых наблюдение чистой зоны лизиса указывало на возможность успешной репликации вируса на том же бактериальном штамме и было рассчитано как единица минус отношение числа спот-тестов категории «++++» на изолятах, не поддержавших репликацию бактериофагов ( $n = 14$ ), к общему числу спот-тестов категории «++++» ( $n = 252$ ).

### Обсуждение

Фаговая репликация может не приводить к полному разрушению клеток, и, наоборот, лизис бактериальных клеток не гарантирует успешного размножения вируса. Это обусловлено явлениями abortивной инфекции, гибели клеток вследствие

связывания с фаговыми частицами и действия не-вирусных компонентов фаголизата. Для того, чтобы проанализировать общую распространенность этих явлений в экспериментальной практике, мы вычислили отношение числа случаев успешной реализации литического цикла бактериофага к числу случаев получения чистых пятен в спот-тестах. Частное результатов двух методов, превышающее единицу, указывает на то, что не все бактерии, поддерживающие репликацию фага, показывают в спот-тестах результаты категории «++++». Напротив, значения меньше единицы свидетельствуют об отсутствии реализации литического жизненного цикла при наличии положительного спот-теста, что может трактоваться как ложноположительный результат.

Сифовирусы *Drexlerviridae* и подовирусы *Studiervirinae* показали приблизительно равные числа положительных результатов тестов бляшкообразующей активности и чистых пятен лизиса (табл. 1). Для подовирусов *Autographiviridae* наблюдалось трехкратное преобладание числа событий репликации, причем в отдельных случаях эти бактериофаги не показали эффективности в спот-тестах. В среднем сифовирусы *Guernseyvirinae* и миовирусы *Straboviridae* размножались на бактериальных культурах несколько чаще, чем образовывали стерильные пятна. Для представителей семейства *Straboviridae* наблюдался значительный разброс значений. Так, колийные бактериофаги pH4A и vB\_EcoM\_JB75 показали большой процент ложноположительных результатов в спот-тесте [18,19], в то время как на штаммах, поддерживающих репликацию клебсиеллезных фагов vB\_KpnM\_VAC13 и vB\_KpnM-VAC66, стерильные пятна за единственным исключением не наблюдались [18].

При разбиении выборки фагов по видам бактерий-продуцентов, с добавлением семи вирусов без таксономической аннотации несогласованность результатов спот-тестов и методов, основанных на выявлении негативных колоний фагов, была выражена в большей степени (табл. 2). Как и в рассмотренном выше примере, для бактериофагов *Escherichia coli* была характерна выраженная изменчивость обсуждаемой метрики. К левой границе диапазона относился колийный подовирус ECA2, к правой – колийный фаг vB\_EcoM-Ro111lw. Для бактериофагов, активных в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* и *Vibrio parahaemolyticus*, было характерно относительно равномерное преобладание числа событий репликации над числом спот-тестов, выявивших максимальный лизис на уровне 1,7:1, 1,9:1 и 1,4:1 соответственно.

В целом в ходе работы для ряда вирулентных бактериофагов мы суммировали число бактериальных штаммов, поддерживающих их репликацию, и сравнили его с числом штаммов, показавших максимальную степень лизиса в спот-тестах. Общее число штаммов, поддержавших реализацию

## Review

**Таблица 1. Литическая активность вирулентных бактериофагов, сгруппированных по таксономическому признаку. В колонке «репликация фага» приведено число бактериальных штаммов, поддерживающих репликацию вируса. В колонке «чистые пятна» приведено число бактериальных штаммов, показавших полный лизис в спот-тесте**  
**Table 1. Lytic activity of virulent bacteriophages grouped by taxonomic feature. The column «phage replication» shows the number of bacterial strains supporting virus replication. The column «clear spots» shows the number of bacterial strains showing complete lysis in spot tests**

	Группа бактериофагов Bacteriophage group	Бактериофаг Bacteriophage	Репликация фага, n Phage replication, n	Чистые пятна, n Clear spots, n	n событий репликации / n чистых пятен n replication events / n clear spots	Источник Source
1	<i>Drexlerviridae</i> (C)	phi731	3	3	1	[21]
2	— « —	vB_SflS-ISF001	10	10	1	[22]
3	— « —	vB_SsoS-ISF002	14	14	1	[22]
4	— « —	B1	2	2	1	[23]
Всего/ Total			29	29		
1	<i>Autographiviridae</i> * (П)	vB_VpaP_AL-1	2	2	1	[24]
2	— « —	vB_VpaP_M3	2	2	1	[25]
3	— « —	vB_VpaP_C2	2	2	1	[25]
4	— « —	phi80-18	6	3	2	[26]
5	— « —	vB_VpaP_M9	2	1	2	[25]
6	— « —	vB_VpaP_M83	3	1	3	[25]
7	— « —	vB_AxyP_19-32_Axy21	6	0	Дел. 0	[27]
8	— « —	vB_AxyP_19-32_Axy09	4	0	Дел. 0	[27]
9	— « —	vB_AxyP_19-32_Axy23	4	0	Дел. 0	[27]
Всего/ Total			31	11		
1	<i>Studiervirinae</i> (П)	ECA2	1	6	0.167	[18]
2	— « —	VB_Ship_A8	7	7	1	[28]
3	— « —	vB_STy-RN5i1	7	6	1.17	[29]
4	— « —	vB_EcoP_SYGE1	16	10	1.6	[30]
Всего/Total			31	29		
1	<i>Guernseyvirinae</i> (C)	vB_EcoS-Ro145c2YLWW	2	2	1	[31]
2	— « —	SS4	24	16	1.5	[32]
3	— « —	SS1	22	14	1.57	[32]
4	— « —	T102	24	15	1.6	[33]
5	— « —	SI1	23	11	2.09	[32]
6	— « —	SF1	23	9	2.56	[32]
7	— « —	vB_SenS-Ent1	15	5	3	[34]
Всего/Total			133	72		
1	<i>Straboviridae</i> (M)	phT4A	1	6	0.167	[18]
2	— « —	vB_EcoM_JB75	1	5	0.2	[19]

Таблица 1. Продолжение  
Table 1. Continuation

	Группа бактериофагов Bacteriophage group	Бактериофаг Bacteriophage	Репликация фага, n Phage replication, n	Чистые пятна, n Clear spots, n	n событий репликации / n чистых пятен n replication events / n clear spots	Источник Source
3	— « —	vB_EcoM_SYGD1	12	9	1.33	[30]
4	— « —	vB_KpnM_VAC13	10	1	10	[20]
5	— « —	vB_KpnM-VAC66	12	0	Дел. 0	[20]
Всего Total			36	21		

Примечание: \*за исключением подсемейства *Studiervirinae*. После названия группы фагов указана их морфология: М, миовирусная, П, подовирусная, С, сифовирусная. Дел. 0 – деление на ноль.

Note: \*with the exception of the subfamily *Studiervirinae*. After the name of the group of phages, their morphology is indicated: M, myovirus, П, podovirus, С, siphovirus. Дел. 0 – division by zero.

Таблица 2. Литическая активность вирулентных бактериофагов, сгруппированных по видам бактерий. В колонке «репликация фага» приведено число бактериальных штаммов, поддерживающих репликацию вируса. В колонке «чистые пятна» приведено число бактериальных штаммов, показавших полный лизис в спот-тестах  
Table 2. Lytic activity of virulent bacteriophages grouped by bacterial species. The column “phage replication” shows the number of bacterial strains that support virus replication. The column “clean spots” shows the number of bacterial strains that showed complete lysis in spot tests

	Бактерия-хозяин Host bacterium	Бактериофаг Bacteriophage	Репликация фага, n Phage replication, n	Чистые пятна, n Clear spots, n	n событий репликации / n чистых пятен n replication events / n clear spots	Источник Source
1	<i>Escherichia coli</i>	ECA2	1	6	0.167	[18]
2	— « —	phT4A	1	6	0.167	[18]
3	— « —	vB_EcoM_JB75	1	5	0.2	[19]
4	— « —	vB_EcoS-Ro145c2YLWW	2	2	1	[31]
5	— « —	vB_EcoM-Ro157lw	3	3	1	[31]
6	— « —	vB_EcoM-Ro121lw	3	3	1	[31]
7	— « —	vB_EcoM_SYGMH1	12	10	1.2	[30]
8	— « —	vB_EcoM_SYGD1	12	9	1.33	[30]
9	— « —	vB_EcoP_SYGE1	16	10	1.6	[30]
10	— « —	vB_EcoM-Ro111lw	4	2	2	[31]
Всего/Total			55	56		
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	phi731	3	3	1	[21]
2	— « —	B1	2	2	1	[23]
3	— « —	vB_KpnM_VAC13	10	1	10	[20]
4	— « —	vB_KpnM-VAC66	12	0	Дел. 0	[20]
Всего/Total			27	6		
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PhL_UNISO_PA-DSM_ph0031	9	9	1	[35]
2	— « —	PhL_UNISO_PA-DSM_ph0034	4	4	1	[35]
3	— « —	BrSP1	20	19	1.05	[36]
4	— « —	vB_PaeM_V524	30	15	2	[37]

## Review

Таблица 2. Продолжение  
Table 2. Continuation

	Бактерия-хозяин Host bacterium	Бактериофаг Bacteriophage	Репликация фага, n Phage replication, n	Чистые пятна, n Clear spots, n	n событий репликации / n чистых пятен n replication events / n clear spots	Источник Source
5	— « —	vB_PaeM_V523	24	5	4.8	[37]
Всего/Total			87	52		
1	<i>Salmonella enterica</i>	vB_STy-RN5i1	7	6	1.17	[29]
2	— « —	SS4	24	16	1.5	[32]
3	— « —	SS1	22	14	1.57	[32]
4	— « —	T102	24	15	1.6	[33]
5	— « —	SI1	23	11	2.09	[32]
6	— « —	SF1	23	9	2.56	[32]
7	— « —	vB_SenS-Ent1	15	5	3	[34]
8	— « —	vB_STy-RN29	9	1	9	[29]
Всего/Total			147	77		
1	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	vB_VpaP_AL-1	2	2	1	[24]
2	— « —	vB_VpaS_AL-2	4	4	1	[24]
3	— « —	vB_VpaP_M3	2	2	1	[25]
4	— « —	vB_VpaP_C2	2	2	1	[25]
5	— « —	vB_VpaS_CHI	3	3	1	[25]
6	— « —	vB_VpS_PG07	14	9	1.56	[38]
7	— « —	vB_VpaS_ALK	5	3	1.67	[25]
8	— « —	vB_VpaP_M9	2	1	2	[25]
9	— « —	vB_VpaP_M83	3	1	3	[25]
Всего/Total			37	27		

Примечание: – Дел. 0 – деление на ноль.  
Note: Дел. 0 – division by zero.

литического цикла ( $n = 404$ ), превышало число спот-тестов категории «++++» ( $n = 252$ ). Таким образом, с одной стороны, не следует преувеличивать проблему ложноположительных результатов спот-тестов с неразведенными фагами [39]. С другой стороны, двумя независимыми группами исследователей было описано формирование колийными фагами чистых зон лизиса на газонах штаммов, не поддерживающих репликацию вирусов [18,19]. Кроме того, во всех известных нам клинических исследованиях с доказанной эффективностью фаготерапии тестирование литической активности бактериофагов не ограничивалось спот-тестами и включало определение титра активного бактериофага [14] или выявление бляшкообразующей активности [40,41].

### Заключение

В пределах нашей выборки литературных данных, наблюдение чистых зон лизиса в 94% случаев указывало на успешную репликацию вируса. Для ряда бактериофагов *E. coli* в независимых литературных источниках описаны ложноположительные результаты спот-тестов. Таким образом, спот-тест является приемлемым методом отбора фагов – кандидатов для использования в терапевтических целях.

### Источник финансирования

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-15-20022, <https://rscf.ru/project/24-15-20022/>, и за счет гранта Санкт-Петербургского научного фонда № 24-15-20022.

## Литература

1. Покровская М. П., Каганова Л. С., Морозенко М. А., и др. Лечение ран бактериофагом. М.: Медгиз, 1941. 51 с.
2. Letarov A. V. История ранних исследований бактериофагов и рождение основных концепций вирусологии. *Биохимия*. 2020;85(9):1189–1212. DOI: 10.31857/S0320972520090031
3. Gorshenin A. V. 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):201–207. DOI: 10.17816/snv2021104211
4. Turner PE, Azeredo J, Buurman ET, et al. Addressing the research and development gaps in modern phage therapy. *Phage*. 2024;5(1):30–39. DOI: 10.3389/fphar.2021.699054
5. Hesse S, Adhya S. Phage therapy in the twenty-first century: facing the decline of the antibiotic era; is it finally time for the age of the phage? *Annu Rev Microbiol*. 2019;73:155–174. DOI: 10.1146/annurev-micro-090817-062535
6. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Arch Med Res*. 2005;36(6):697–705. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.06.009
7. Kinch MS, Kraft Z, Schwartz T. Antibiotic development: lessons from the past and future opportunities. *Pharm Res*. 2024;41(5):839–848. DOI: 10.1007/s11095-024-03694-2
8. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. *Review on Antimicrobial Resistance*. 2016. 84 p.
9. GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*. 2024;404(10459):1199–1226. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)01867-1
10. Nilsson AS. Pharmacological limitations of phage therapy. *Ups J Med Sci*. 2019;124(4):218–227. DOI: 10.1080/03009734.2019.1688433
11. Valente L, Prazak J, Que YA, et al. Progress and pitfalls of bacteriophage therapy in critical care: a concise definitive review. *Crit Care Explor*. 2021;3(3):e0351. DOI: 10.1097/CCE.0000000000000351
12. Pirnay JP, Verbeke G. Magistral phage preparations: is this the model for everyone? *Clin Infect Dis*. 2023;77(Suppl 5):S360–S369. DOI: 10.1093/cid/ciad481
13. Yerushalmy O, Braunstein R, Alkalay-Oren S, et al. Towards standardization of phage susceptibility testing: the Israeli phage therapy center «clinical phage microbiology»-a pipeline proposal. *Clin Infect Dis*. 2023;77(Suppl 5):S337–S351. DOI: 10.1093/cid/ciad514
14. Fedorov E, Samokhin A, Kozlova Y, et al. Short-term outcomes of phage-antibiotic combination treatment in adult patients with periprosthetic hip joint infection. *Viruses*. 2023;15(2):499. DOI: 10.3390/v15020499
15. Асланов Б. И., Зуева Л. П., Пунченко О. Е., и др. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Методические рекомендации. Москва, 2022. 32 с.
16. Hyman P, Abedon ST. Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Adv Appl Microbiol*. 2010;70:217–48. DOI: 10.1016/S0065-2164(10)70007-1
17. Pchelina IM, Smolensky AV, Azarov DV, et al. Lytic spectra of tailed bacteriophages: a systematic review and meta-analysis. *Viruses*. 2024;16(12):1879. DOI: 10.3390/v16121879
18. Pereira C, Moreira R, Lewicka M, et al. Characterization and in vitro evaluation of new bacteriophages for the biocontrol of *Escherichia coli*. *Virus Res*. 2017;227:171–182. DOI: 10.1016/j.virusres.2016.09.019
19. Barros J, Melo LDR, Poeta P, et al. Lytic bacteriophages against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* isolates from orthopaedic implant-associated infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2019;54(3):329–337. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.06.007
20. Pacios O, Fernández-García L, Bleriot I, et al. Phenotypic and genomic comparison of *Klebsiella pneumoniae* lytic phages: vB\_KpnM-VAC66 and vB\_KpnM-VAC13. *Viruses*. 2021;14(1):6. DOI: 10.3390/v14010006
21. Pertierra BZ, Kovács T, Schneider G. Characterization of a lytic bacteriophage and demonstration of its combined lytic effect with a K2 depolymerase on the hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain 52145. *Microorganisms*. 2023;11(3):669. DOI: 10.3390/microorganisms11030669
22. Shahin K, Bouzari M, Wang R, et al. Prevalence and molecular characterization of multidrug-resistant *Shigella* species of food origins and their inactivation by specific lytic bacteriophages. *Int J Food Microbiol*. 2019;305:108252. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108252
23. Pertierra BZ, Cox A, Nyúl A, et al. Isolation and characterization of a novel lytic bacteriophage against the K2 capsule-expressing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain 52145, and identification of its functional depolymerase. *Microorganisms*. 2021;9(3):650. DOI: 10.3390/microorganisms9030650
24. González-Gómez JP, López-Cuevas O, Castro-Del Campo N, et al. Genomic and biological characterization of the novel phages vB\_VpaP\_AL-1 and vB\_VpaS\_AL-2 infecting *Vibrio parahaemolyticus* associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Virus Res*. 2022;312:198719. DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198719
25. Orozco-Ochoa AK, González-Gómez JP, Castro-Del Campo N, et al. Characterization and genome analysis of six novel *Vibrio parahaemolyticus* phages associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Virus Res*. 2023;323:198973. DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198973
26. Filik K, Szermer-Olearnik B, Wernecki M, et al. The podovirus 80-18 targets the pathogenic American biotype 1B strains of *Yersinia enterocolitica*. *Front Microbiol*. 2020;11:1356. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01356
27. Essoh C, Vernadet JP, Vergnaud G, et al. Characterization of sixteen *Achromobacter xylosoxidans* phages from Abidjan, Côte d'Ivoire, isolated on a single clinical strain. *Arch Virol*. 2020;165(3):725–730. DOI: 10.1007/s00705-019-04511-7
28. Xu J, Zhang R, Yu X, et al. Molecular characteristics of novel phage vB\_Ship-A7 infecting multidrug-resistant *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*, and its bactericidal effect in vitro and in vivo. *Front Microbiol*. 2021;12:698962. DOI: 10.3389/fmicb.2021.698962
29. Imklin N, Nasanit R. Characterization of *Salmonella* bacteriophages and their potential use in dishwashing materials. *J Appl Microbiol*. 2020;129(2):266–277. DOI: 10.1111/jam.14617
30. 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;11:690377. DOI: 10.3389/fcimb.2021.690377
31. Liao YT, Sun X, Quintela IA, et al. Discovery of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC)-specific bacteriophages from non-fecal composts using genomic characterization. *Front Microbiol*. 2019;10:627. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00627
32. Fong K, LaBossiere B, Switt AIM, et al. Characterization of four novel bacteriophages isolated from British Columbia for control of non-typhoidal *Salmonella* in vitro and on sprouting alfalfa seeds. *Front Microbiol*. 2017;8:2193. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02193
33. Ding Y, Huang C, Zhu W, et al. Characterization of a novel *Jerseyvirus* phage T102 and its inhibition effect on biofilms of multidrug-resistant *Salmonella*. *Virus Res*. 2023;326:199054. DOI: 10.1016/j.virusres.2023.199054
34. Turner D, Hezwani M, Nelson S, et al. Characterization of the *Salmonella* bacteriophage vB\_SenS-Ent1. *J Gen Virol*. 2012;93(Pt 9):2046–2056. DOI: 10.1099/vir.0.043331-0
35. Harada LK, Silva EC, Rossi FP, et al. Characterization and in vitro testing of newly isolated lytic bacteriophages for the biocontrol of *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiol*. 2022;11:11–141. DOI: 10.2217/fmb-2021-0027
36. de Melo ACC, da Mata Gomes A, Melo FL, et al. Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals. *BMC Microbiol*. 2019;19(1):134. DOI: 10.1186/s12866-019-1481-z
37. Kauppinen A, Siponen S, Pitkanen T, et al. Phage biocontrol of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Viruses*. 2021;13(5):928. DOI: 10.3390/v13050928
38. Ding T, Sun H, Pan Q, et al. Isolation and characterization of *Vibrio parahaemolyticus* bacteriophage vB\_VpaS\_PG07. *Virus Res*. 2020;286:198080. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198080
39. Abedon ST. Information Phage Therapy Research Should Report. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2017;10(2):43. DOI: 10.3390/ph10020043
40. Ooi ML, Drilling AJ, Morales S, et al. Safety and tolerability of bacteriophage therapy for chronic rhinosinusitis due to *Staphylococcus aureus*. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019;145(8):723–729. DOI: 10.1001/jamaoto.2019.1191
41. Wright A, Hawkins CH, Anggård EE, et al. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol*. 2009;34(4):349–57. DOI: 10.1111/j.1749-4486.2009.01973.x

## References

1. Pokrovskaya MP, Kaganova LS, Morozenko MA, et al. Bacteriophage treatment of wounds. Moscow: State publishing house of medical literature «Medgiz»: 1941. 51 p. (in Russ.)
2. Letarov AV. History of early bacteriophage research and emergence of key concepts in virology. *Biochemistry*. 2020;85(9):1093–1112 (in Russ.) DOI: 10.31857/S0320972520090031
3. Gorshenin A.V. Participation of microbiologists Z.V. Ermolyeva and L.M. Yakobson in a scientific discussion about the fate of the production of Soviet cholera bacteriophages in 1967. *Samara Journal of Science*. 2021;10(4):201–207 (in Russ.) DOI: 10.17816/snv2021104211
4. Turner PE, Azeredo J, Buurman ET, et al. Addressing the research and development gaps in modern phage therapy. *Phage*. 2024;5(1):30–39. DOI: 10.3389/fphar.2021.699054
5. Hesse S, Adhya S. Phage therapy in the twenty-first century: facing the decline of the antibiotic era; is it finally time for the age of the phage? *Annu Rev Microbiol*. 2019;73:155–174. DOI: 10.1146/annurev-micro-090817-062535
6. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Arch Med Res*. 2005;36(6):697–705. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.06.009
7. Kinch MS, Kraft Z, Schwartz T. Antibiotic development: lessons from the past and future opportunities. *Pharm Res*. 2024;41(5):839–848. DOI: 10.1007/s11095-024-03694-2
8. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. *Review on Antimicrobial Resistance*. 2016. 84 p.
9. GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*. 2024;404(10459):1199–1226. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)01867-1
10. Nilsson AS. Pharmacological limitations of phage therapy. *Ups J Med Sci*. 2019;124(4):218–227. DOI: 10.1080/03009734.2019.1688433
11. Valente L, Prazak J, Que YA, et al. Progress and pitfalls of bacteriophage therapy in critical care: a concise definitive review. *Crit Care Explor*. 2021;3(3):e0351. DOI: 10.1097/CCE.0000000000000351
12. Pirnay JP, Verbeke G. Magistral phage preparations: is this the model for everyone? *Clin Infect Dis*. 2023;77(Suppl 5):S360–S369. DOI: 10.1093/cid/ciad481
13. Yerushalmy O, Braunstein R, Alkalay-Oren S, et al. Towards standardization of phage susceptibility testing: the Israeli phage therapy center «clinical phage microbiology»-a pipeline proposal. *Clin Infect Dis*. 2023;77(Suppl 5):S337–S351. DOI: 10.1093/cid/ciad514
14. Fedorov E, Samokhin A, Kozlova Y, et al. Short-term outcomes of phage-antibiotic combination treatment in adult patients with periprosthetic hip joint infection. *Viruses*. 2023;15(2):499. DOI: 10.3390/v15020499
15. Асланов БИ, Зуева ЛП, Пунченко ОЕ, et al. Rational use of bacteriophages in therapeutic and antiepidemic practice. *Methodological guidelines*. Moscow, 2022 (in Russ.)
16. Hyman P, Abedon ST. Bacteriophage host range and bacterial resistance. *Adv Appl Microbiol*. 2010;70:217–48. DOI: 10.1016/S0065-2164(10)70007-1
17. Pchelina IM, Smolensky AV, Azarov DV, et al. Lytic spectra of tailed bacteriophages: a systematic review and meta-analysis. *Viruses*. 2024;16(12):1879. DOI: 10.3390/v16121879
18. Pereira C, Moreira R, Lewicka M, et al. Characterization and in vitro evaluation of new bacteriophages for the biocontrol of *Escherichia coli*. *Virus Res*. 2017;227:171–182. DOI: 10.1016/j.virusres.2016.09.019

19. Barros J, Melo LDR, Poeta P, et al. Lytic bacteriophages against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* isolates from orthopaedic implant-associated infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2019;54(3):329–337. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.06.007
20. Pacios O, Fernández-García L, Bleriot I, et al. Phenotypic and genomic comparison of *Klebsiella pneumoniae* lytic phages: vB\_KpnM-VAC66 and vB\_KpnM-VAC13. *Viruses*. 2021;14(1):6. DOI: 10.3390/v14010006
21. Pertics BZ, Kovács T, Schneider G. Characterization of a lytic bacteriophage and demonstration of its combined lytic effect with a K2 depolymerase on the hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain 52145. *Microorganisms*. 2023;11(3):669. DOI: 10.3390/microorganisms11030669
22. Shahin K, Bouzari M, Wang R, et al. Prevalence and molecular characterization of multidrug-resistant *Shigella* species of food origins and their inactivation by specific lytic bacteriophages. *Int J Food Microbiol*. 2019;305:108252. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108252
23. Pertics BZ, Cox A, Nyúl A, et al. Isolation and characterization of a novel lytic bacteriophage against the K2 capsule-expressing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain 52145, and identification of its functional depolymerase. *Microorganisms*. 2021;9(3):650. DOI: 10.3390/microorganisms9030650
24. González-Gómez JP, López-Cuevas O, Castro-Del Campo N, et al. Genomic and biological characterization of the novel phages vB\_VpaP\_AL-1 and vB\_VpaS\_AL-2 infecting *Vibrio parahaemolyticus* associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Virus Res*. 2022;312:198719. DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198719
25. Orozco-Ochoa AK, González-Gómez JP, Castro-Del Campo N, et al. Characterization and genome analysis of six novel *Vibrio parahaemolyticus* phages associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Virus Res*. 2023;323:198973. DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198973
26. Filik K, Szemer-Olearnik B, Wernecki M, et al. The podovirus 80-18 targets the pathogenic American biotype 1B strains of *Yersinia enterocolitica*. *Front Microbiol*. 2020;11:1356. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01356
27. Essoh C, Vernadet JP, Vergnaud G, et al. Characterization of sixteen *Achromobacter xylosoxidans* phages from Abidjan, Côte d'Ivoire, isolated on a single clinical strain. *Arch Virol*. 2020;165(3):725–730. DOI: 10.1007/s00705-019-04511-7
28. Xu J, Zhang R, Yu X, et al. Molecular characteristics of novel phage vB\_Ship-A7 infecting multidrug-resistant *Shigella flexneri* and *Escherichia coli*, and its bactericidal effect in vitro and in vivo. *Front Microbiol*. 2021;12:698962. DOI: 10.3389/fmicb.2021.698962
29. Imklin N, Nasanit R. Characterization of *Salmonella* bacteriophages and their potential use in dishwashing materials. *J Appl Microbiol*. 2020;129(2):266–277. DOI: 10.1111/jam.14617
30. 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;11:690377. DOI: 10.3389/fcimb.2021.690377
31. Liao YT, Sun X, Quintela IA, et al. Discovery of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC)-specific bacteriophages from non-fecal composts using genomic characterization. *Front Microbiol*. 2019;10:627. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00627
32. Fong K, LaBossier E, Switt AIM, et al. Characterization of four novel bacteriophages isolated from British Columbia for control of non-typhoidal *Salmonella* in vitro and on sprouting alfalfa seeds. *Front Microbiol*. 2017;8:2193. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02193
33. Ding Y, Huang C, Zhu W, et al. Characterization of a novel Jerseyvirus phage T102 and its inhibition effect on biofilms of multidrug-resistant *Salmonella*. *Virus Res*. 2023;326:199054. DOI: 10.1016/j.virusres.2023.199054
34. Turner D, Hezwani M, Nelson S, et al. Characterization of the *Salmonella* bacteriophage vB\_Sens-Ent 1. *J Gen Virol*. 2012;93(Pt 9):2046–2056. DOI: 10.1099/vir.0.043331-0
35. Harada LK, Silva EC, Rossi FP, et al. Characterization and in vitro testing of newly isolated lytic bacteriophages for the biocontrol of *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiol*. 2022;111–141. DOI: 10.2217/fmb-2021-0027
36. de Melo ACC, da Mata Gomes A, Melo FL, et al. Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals. *BMC Microbiol*. 2019;19(1):134. DOI: 10.1186/s12866-019-1481-z
37. Kauppinen A, Siponen S, Pitkänen T, et al. Phage biocontrol of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Viruses*. 2021;13(5):928. DOI: 10.3390/v13050928
38. Ding T, Sun H, Pan Q, et al. Isolation and characterization of *Vibrio parahaemolyticus* bacteriophage vB\_VpaS\_PG07. *Virus Res*. 2020;286:198080. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198080
39. Abedon ST. Information Phage Therapy Research Should Report. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2017;10(2):43. DOI: 10.3390/ph10020043
40. Ooi ML, Drilling AJ, Morales S, et al. Safety and tolerability of bacteriophage therapy for chronic rhinosinusitis due to *Staphylococcus aureus*. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019;145(8):723–729. DOI: 10.1001/jamaoto.2019.1191
41. Wright A, Hawkins CH, Anggård EE, et al. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol*. 2009;34(4):349–357. DOI: 10.1111/j.1749-4486.2009.01973.x

## Об авторах

- **Иван Михайлович Пчелин** – к. б. н., научный сотрудник лаборатории функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. ORCID ID: 0000-0003-3062-3316.
- **Даниил Валерьевич Азаров** – к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; ассистент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. ORCID ID: 0000-0003-2483-5144.
- **Варвара Андреевна Дедик** – студентка ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Санкт-Петербург, Россия.
- **Дарья Александровна Кушниренко** – лаборант-исследователь лаборатории инновационных методов микробиологического мониторинга научно-образовательного центра «Молекулярные основы взаимодействия микроорганизмов и человека» научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины» ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Санкт-Петербург. ORCID ID: 0009-0006-2960-1397.
- **Батырбек Исмаелович Асланов** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург. ORCID ID: 0000-0002-6890-8096.
- **Артемий Евгеньевич Гончаров** – д. м. н., заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург. ORCID ID: 0000-0002-5206-6656.
- **Дмитрий Анатольевич Лиознов** – д. м. н., профессор, директор ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург; заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург. ORCID ID: 0000-0003-3643-7354.

Поступила: 12.11.2024. Принята к печати: 28.11.2024.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## About the Authors

- **Ivan M. Pchelin** – Cand. Sci. (Biol.), Researcher at the Laboratory of Functional Genomics and Proteomics of Microorganisms, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3062-3316.
- **Daniil V. Azarov** – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher at the Laboratory of Functional Genomics and Proteomics of Microorganisms, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia; Teaching Assistant at the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2483-5144.
- **Varvara A. Dedik** – student, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia.
- **Daria A. Kushnirenko** – Laboratory Assistant at the Laboratory of Innovative Methods of Microbiological Monitoring, World-Class Research Center “Center for Personalized Medicine”, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0006-2960-1397.
- **Batyrbek I. Aslanov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6890-8096.
- **Artemy E. Goncharov** – Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Innovative Methods of Microbiological Monitoring, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia; Professor at the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5206-6656.
- **Dmitry A. Lioznov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia; Head of Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3643-7354.

Received: 12.11.2024. Accepted: 28.11.2024.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.