

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-39>

Биологические свойства и генетическая характеристика экспериментальных диагностических бактериофагов *Vibrio cholerae*

Погожова М.П.[✉], Гаевская Н.Е., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Аноприенко А.О., Романова Л.В., Тюрина А.В.

Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Актуальность. В настоящее время проводится работа по конструированию новых диагностических и профилактических препаратов на основе бактериофагов, поэтому актуально изучение биологических свойств холерных фагов наравне с их генетической структурой. Эта информация необходима для прогнозирования жизненного цикла фага и оценки перспектив практического использования в экспериментальной деятельности, фагодиагностике или фагопрофилактике.

Материалы и методы. Наличие или отсутствие генов, характерных для умеренных бактериофагов, проверяли при помощи созданной авторами базы данных и программного обеспечения «PhageAnalyzer», позволяющего проводить быстрый анализ данных полногеномного секвенирования бактериофагов и прогнозировать их жизненный цикл.

Результаты и обсуждение. Морфологическая структура экспериментальных диагностических холерных фагов представлена головчатými бактериофагами различных морфогрупп. Негативные колонии фагов различались по диаметру, форме и степени прозрачности. В геномах бактериофагов Rostov-1, Rostov-6, Rostov 7 и Rostov M3 генетических детерминант факторов резистентности и токсинов не обнаружено. В результате филогенетического анализа определено, что исследованные холерные экспериментальные бактериофаги имеют сходство с головчатými фагами из рода *Vibrio*, но являются уникальными, т.к. находятся «вне кластерных групп». *Vibrio* фаги Rostov-1 и Rostov M3 являются литическими. У холерных фагов Rostov-6 и Rostov 7 найдены гены, характерные для умеренных бактериофагов.

Заключение. Экспериментальный холерный бактериофаг Rostov-1 может быть использован для дифференциации холерного вибриона O1 серогруппы биовара El Tor, а *Vibrio* фаг Rostov M3 — для биовара Classical. Оба бактериофага являются литическими и перспективными компонентами для создания профилактических препаратов против холеры. *Vibrio* фаги Rostov-6 и Rostov 7 могут быть успешно использованы только в экспериментальной деятельности, а также при мониторинге холерных вибрионов из окружающей среды. Полные геномные последовательности зарегистрированы и доступны в международной базе GenBank (NCBI).

Ключевые слова: холерные бактериофаги, *Vibrio phage*, биологические свойства, полногеномное секвенирование

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: 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):290–297. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-39>

Biological properties and genetic characteristics of experimental diagnostic *Vibrio cholerae* bacteriophages

Marina P. Pogozhova[✉], Natalya E. Gayevskaya, Alexey S. Vodopyanov, Ruslan V. Pisanov, Anna O. Anoprienko, Lyudmila V. Romanova, Anna V. Tyurina

Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Background. Currently, the researches focused on the design of new diagnostic and preventive preparations based on bacteriophages are underway, so it is important to study the biological properties of cholera phages along with their genetic structure. This information is necessary to predict the phage life cycle and assess the prospects of its practical use in experiments, phagodiagnosics and phagoprophylaxis.

Materials and methods. The presence or absence of genes characteristic of temperate bacteriophages was tested using a database created by the authors and developed software "PhageAnalyzer", which allows for rapid analysis of bacteriophage genome-wide sequencing data and prediction of their life cycle.

Results and discussion. The morphological structure of experimental diagnostic cholera phages is represented by head bacteriophages of various morphogroups. Negative colonies phage differed in diameter, shape and degree of transparency. No genetic determinants of resistance factors and toxins have been found in the genomes of bacteriophages Rostov-1, Rostov-6, Rostov 7, and Rostov M3. Results of phylogenetic analysis demonstrated that the studied experimental cholera bacteriophages resemble headphages from the genus *Vibrio*, but are unique, since they lie outside "cluster groups". *Vibrio* phages Rostov-1 and Rostov M3 are appeared to be lytic. Genes characteristic of moderate bacteriophages were found in cholera phages Rostov-6 and Rostov 7.

Conclusion. The experimental cholera bacteriophage Rostov-1 can be used to differentiate cholera vibriion O1 the serogroup of the El Tor biovar, and *Vibrio* phage Rostov M3 can be used to differentiate the Classical biovar. Both bacteriophages are lytic and promising components for creating prophylactic drugs against cholera. *Vibrio* phages Rostov-6 and Rostov 7 can be successfully used only in experimental activities, as well as for monitoring cholera vibriions in the environment. Complete genomic sequences are deposited and available in the international database Genbank (NCBI).

Keywords: cholera bacteriophages, *Vibrio* phage, biological properties, sequencing

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Pogozhova M.P., Gayevskaya N.E., Vodopyanov 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. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2021;98(3):290–297.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-39>

Введение

Холера представляет значительную угрозу для здравоохранения и выявляется не только в эндемичных регионах [1, 2]. Детальное изучение бактериофагов имеет как теоретическое, так и важное практическое значение. Бактериофаги используют для разработки эффективных методов фагодиагностики и фагопрофилактики возбудителей различных заболеваний, в том числе холеры. Вирулентные формы фагов являются одним из основных элементов биологической борьбы с бактериальной инфекцией [3, 4]. Только вирулентные бактериофаги могут применяться в составе профилактических препаратов, поскольку воздействие умеренных бактериофагов на культуру фагочувствительных бактериальных клеток приводит к образованию фагорезистентных вариантов. На сегодняшний день

обнаружено множество генов, характерных для умеренных бактериофагов, которые могут быть встроены в геном. Наиболее информативным методом для выявления генетических детерминант умеренных бактериофагов является полногеномное секвенирование [5, 6].

Цель исследования — изучение биологических свойств и генетических характеристик холерных бактериофагов Rostov-1, Rostov-6, Rostov 7 и Rostov M3, входящих в число экспериментальных диагностических бактериофагов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы биоваров El Tor и Classical.

Материалы и методы

В исследование взяты бактериофаги Rostov-1, Rostov-6, Rostov 7 и Rostov M3, входящие в число экспериментальных диагностических бактериофа-

гов *V. cholerae* O1 серогруппы биоваров El Tor и Classical. Бактериофаги выделены из водных объектов окружающей среды и находятся в коллекции холерных фагов лаборатории бактериофагов Ростовского-на-Дону противочумного института.

Изучение биологических свойств проводили общепринятыми методами [7]. Для подготовки к электронно-микроскопическому исследованию препарат бактериофагов центрифугировали, отбирали супернатант и вносили в него полиэтиленгликоль 6000. Далее центрифугировали, удаляли супернатант, а осадок ресуспендировали деионизованной водой. Затем наносили препарат на сеточки для электронной микроскопии и контрастировали 2% водным раствором уранилацетата. После высушивания образцы просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе «JEM-1011» («JEOL»). Электронограммы получены при помощи CDC-камеры «Olimpus-SIS-Veleta» («Olimpus») и программного обеспечения «iTEM-TEMImagingPlatform» («ResAlta»).

ДНК фагов выделяли в соответствии с ранее описанными методиками [8–10]. Количество и качество выделенной ДНК контролировали электрофорезом в 0,8% агарозном геле. Качество полученных препаратов фаговой ДНК исследовали, подвергая их гидролизу эндонуклеазами рестрикции, а также в ПЦР. Отсутствие бактериальных хромосом в пробах подтверждали методом ПЦР с использованием ген-специфичных праймеров для определения фрагментов ДНК *hly* и *ctx*⁺. Раствор фаговой ДНК хранили при –20°C.

Геномную последовательность бактериофагов определяли с использованием одного из методов высокопроизводительного секвенирования. ДНК фагов секвенирована с помощью полногеномного секвенатора «Miseq» («Illumina»).

Первичные данные секвенирования оценивали с использованием программы «FastQC» [11]. Для тримминга и коррекции ридов применяли алгоритмы Trimmomatic [12] и Lighter [13]. Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили в программе «Spades» [14]. Собранные геномы бактериофагов сравнивали с аннотированными последовательностями известных бактериофагов при помощи алгоритма BLASTN 2.2.29¹. Наличие или отсутствие генов, характерных для умеренных бактериофагов (генетических детерминант факторов резистентности, токсинов и интеграз), проверяли при помощи созданной нами базы данных и разработанного программного обеспечения «PhageAnalyzer»²,

¹ URL: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>

² Погожова М.П., Водопьянов А.С., Гаевская Н.Е. и др. PhageAnalyzer — программа для анализа данных полногеномного секвенирования бактериофагов. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019616060 от 17.05.2019. Available at: <http://antiplague.ru/phageanalyzer/>

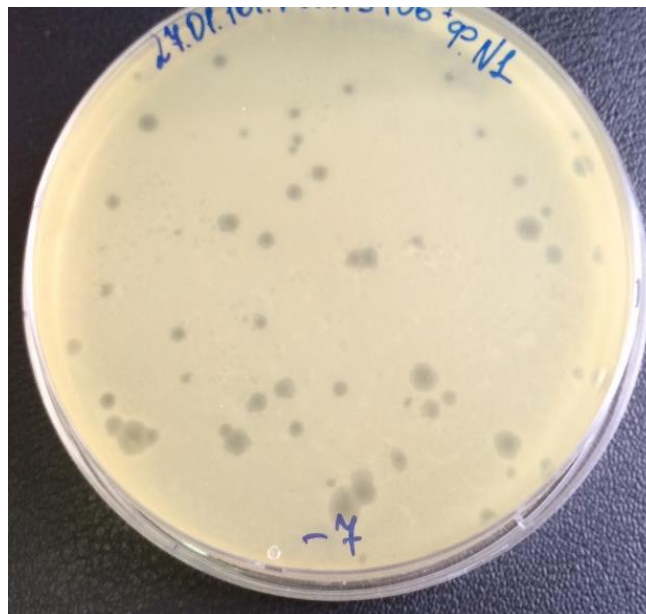


Рис. 1. Негативные колонии, образуемые на газоне индикаторной культуры *V. cholerae* O1 серогруппы биовара El Tor бактериофагом Rostov-1.

Fig. 1. Negative colonies formed on the lawn of the indicator culture of *V. cholerae* O1 serogroup of the El Tor biovar bacteriophage Rostov-1.

позволяющего проводить быстрый анализ данных полногеномного секвенирования бактериофагов и прогнозировать их жизненный цикл.

Результаты

Исследование методом электронной микроскопии показало, что экспериментальные бактериофаги — головчатые, но относятся к различным морфогруппам и семействам (табл. 1).

Холерные бактериофаги Rostov-1 и Rostov 7 активны в отношении *V. cholerae* серогруппы O1 биовара El Tor с диапазоном литической активности 57,5 и 66,3% соответственно. На газоне индикаторной культуры *Vibrio* фаг Rostov-1 образует колонии двух типов: мелкие (диаметром 1,0–1,5 мм) и крупные (3,0–6,0 мм) (рис. 1), а *Vibrio* фаг Rostov 7 образует прозрачные негативные колонии (1,0–1,5 мм).

Бактериофаг Rostov M3 активен в отношении холерного вибриона O1 серогруппы биовара Classical с диапазоном литической активности 83,3%. На газоне индикаторной культуры бактериофаг Rostov M3 образует прозрачные негативные колонии диаметром 1,5–2,0 мм. В свою очередь, *Vibrio* фаг Rostov-6 активен в отношении *V. cholerae* O1 серогруппы биоваров Classical и El Tor, в том числе к антибиотикоустойчивому штамму *V. cholerae* El Tor 19243 (стрептомицин, фуразолидон, триметоприм/сульфаметоксазол, налидиксовая кислота) со спектром литической активности 64,6%. На газоне индикаторной культуры *Vibrio* фаг Rostov-6 обра-

Таблица 1. Морфология исследованных фаговых корпускул

Table 1. Morphology of the studied phage corpuscles

Название бактериофага The name of bacteriophage	Размер и строение головки Head size and structure	Размер и строение хвоста Tail size and structure	Морфогруппа [15] Morphogroup [15]	Тип [16] Type [16]	Семейство Family
Rostov-1	440×515 Å Многогранная головка Multifaceted head	125 Å Короткий несократимый хвост Short irreducible tail	III	C	<i>Podoviridae</i>
Rostov-6	453×510 Å Многогранная головка Multifaceted head	110 Å Короткий несократимый хвост Short irreducible tail			
Rostov 7	453×510 Å Многогранная головка Multifaceted head	1023 Å Длинный сократимый хвост Long contractile tail	V	A	<i>Myoviridae</i>
Rostov M3	451×533 Å Многогранная головка Multifaceted head	113 Å Короткий сократимый хвост Short contractile tail			

Таблица 2. Анализ последовательностей геномов холерных экспериментальных бактериофагов

Table 2. Sequence analysis of the genomes of the experimental cholera bacteriophages

№ No.	Название фага Phage name	Размер генома п.н. Genome size, bp	Количество открытых рамок считывания Number of Open Reading Frame
1	Rostov-1	37 247	39
2	Rostov-6	39 934	15
3	Rostov 7	45 903	35
4	Rostov M3	46 669	50

зует прозрачные негативные колонии диаметром 1,0–1,5 мм.

Исследованные фаги устойчивы к воздействию хлороформа и инактивируются при 60°C в течение 30 мин. Специфичность экспериментальных бактериофагов в отношении хозяина подтверждена на большом наборе представителей близкородственных микроорганизмов семейств *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, которые не лизировались испытуемыми фагами.

Результаты, полученные при секвенировании геномов холерных экспериментальных бактериофагов, показали, что размеры их геномов колеблются от 37 до 47 тыс. пар нуклеотидов (табл. 2).

По данным биоинформационного анализа ДНК исследованных бактериофагов, в их составе выявлены гены, характерные для головчатых фагов *V. cholerae* (табл. 3).

Обсуждение

Морфологический анализ методом электронной микроскопии показал, что исследованные бактериофаги являются головчатыми. Эти данные подтверждает анализ нуклеотидных последова-

тельностей и относит экспериментальные диагностические холерные бактериофаги к ДНК-содержащим хвостатым фагам. Размеры геномов бактериофагов Rostov-1, Rostov-6, Rostov 7 и Rostov M3 достаточно большие, в них обнаружены гены, характерные для головчатых фагов рода *Vibrio* (табл. 3).

Бактериофаги Rostov-1 и Rostov 7 обладают способностью лизировать более широкий спектр штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы биовара El Tor по сравнению с другими холерными фагами El Tor. Фаг Rostov M3 активен в отношении *V. cholerae* O1 серогруппы биовара Classical с большим диапазоном литической активности. Холерный бактериофаг Rostov-6 также имеет высокий спектр литической активности и уникален тем, что активен в отношении *V. cholerae* O1 серогруппы биоваров как Classical, так и El Tor, в том числе антибиотикоустойчивого штамма *V. cholerae* El Tor 19243.

После сравнения генома бактериофага Rostov-1 с имеющимися в базе данных GenBank генами других фагов из группы *Vibrio phage* обнаружено, что только 23 открытых рамки считывания (ORF) имеют установленные функции. Гомологичные последова-

Таблица 3. Геномы головчатых фагов, представленные в базе данных GenBank (NCBI)**Table 3.** Genomes of head phages available in GenBank database (NCBI)

№ No.	Название фага Phage name	Номер доступа в GenBank GenBank accession number
1	<i>Vibrio</i> phage vB_VchM-138	JQ177064.1
2	<i>Vibrio</i> phage 24	KJ572844.2
3	<i>Vibrio</i> phage CP-T1	JQ177061.1
4	Phage CP-T1 (<i>Vibrio cholerae</i>)	X12375.1
5	<i>Vibrio</i> phage X29	KJ572845.2
6	<i>Vibrio</i> phage phi 2	KJ545483.2
7	<i>Vibrio</i> phage N4	FJ409640.1
8	<i>Vibrio</i> phage ICP3_2007_A	HQ641344.1
9	<i>Vibrio</i> phage ICP3	HQ641340.1
10	<i>Vibrio</i> phage ICP3_2008_A	HQ641343.1
11	<i>Vibrio</i> phage ICP3_2009_B	HQ641341.1
12	<i>Vibrio</i> phage JSF25	MF574151.1
13	<i>Vibrio</i> phage VP4	DQ029335.1
14	<i>Vibrio</i> phage VP3	JQ780163.1
15	<i>Vibrio</i> phage H2	KM612262.1
16	<i>Vibrio</i> phage CJY	KM612260.1
17	<i>Vibrio</i> phage J3	KM612265.1
18	<i>Vibrio</i> phage H3	KM612263.1
19	<i>Vibrio</i> phage H1	KM612261.1
20	<i>Vibrio</i> phage J2	KM612264.1
21	<i>Vibrio</i> phage phiVC8	JF712866.1
22	<i>Vibrio</i> phage VP5	AY510084.1
23	<i>Vibrio</i> phage QH	KM612259.1

тельности в известных бактериальных геномах не обнаружены. Установлено, что вибриофаг Rostov-1 является литическим, т.к. в результате биоинформационного анализа не обнаружено генов, характерных для умеренных бактериофагов.

В геноме бактериофага Rostov-6 идентифицированы 13 последовательностей, гомологичных бактериальным, что составляет большую часть генома. Также обнаружены 2 ORF, которые гомологичны фаговым. Бактериофаг Rostov-6 считается умеренным, потому что в нём обнаружена интеграна (YP_009153053.1) с гомологией 96,6%.

Бактериофаг Rostov 7 имеет 28 ORF из рода *Vibrio* и 7 ORF из других родов с установленными функциями. Обнаружены гомологичные последовательности в известных бактериальных геномах — гипотетические белки гамма-протеобактерий и профаг *Bacillus subtilis*. Поскольку в геноме найдены 2 интегразы с гомологией 96,6% (YP_009043902.1) и 94% (YP_009043892.1), бактериофаг Rostov 7 яв-

ляется умеренным.

Анализ нуклеотидных последовательностей фага Rostov M3 показал, что в геноме 50 ORF, и все они принадлежат роду *Vibrio*. После анализа данных, предоставленных системой BLASTN, обнаружены 3 бактериофага, гомологичные Rostov M3, относящиеся к тому же семейству *Myoviridae* [16]. Из них 2 фага *Vibrio* vB_VchM-138 и *Vibrio* phage 24, идентичные Rostov M3 на 99,08 и 98,31% соответственно, являются литическими, организм-хозяин — *V. cholerae* O1 серогруппы биовара Classical. Данные фаги описаны как диагностические, а также перспективные для фаготерапии [5, 17]. Третий *Vibrio* фаг CP-T1 идентичен Rostov M3 на 98,31%, но является умеренным и способен размножаться на обоих биоварах *V. cholerae* O1 Classical и El Tor [18]. Генетические детерминанты факторов резистентности, токсинов и интеграз не обнаружены, значит он является литическим.

Анализируя дендрограмму (рис. 2), следует отметить общность сходства исследованных экспериментальных диагностических бактериофагов с головчатыми фагами *V. cholerae* и принадлежность к данному семейству, но обособленное положение «вне кластерных групп» указывает на их уникальность.

Исследованные фаги имеют высокий процент сходства с геномами бактериофагов, представленных в базе данных GenBank, — 83–99%, но все же являются уникальными. Аннотированные последовательности фагов зарегистрированы в международной базе GenBank (табл. 4).

Заключение

Морфологическая структура экспериментальных диагностических холерных фагов представлена головчатыми бактериофагами различных морфогрупп. Негативные колонии фагов различались по диаметру, форме и степени прозрачности.

В геномах бактериофагов Rostov-1, Rostov-6, Rostov 7 и Rostov M3 генетических детерминант факторов резистентности и токсинов не обнаружено. В результате филогенетического анализа стало известно, что имеют сходство исследованные холерные экспериментальные бактериофаги с голов-

Таблица 4. Зарегистрированные геномы исследованных бактериофагов**Table 4.** Deposited genomes of the studied bacteriophages

Название бактериофага Phage name	Номер доступа в GenBank GenBank accession number
Rostov-1	MG957431
Rostov-6	MN105773
Rostov 7	MK575466.1
Rostov M3	MN379460-MN379463

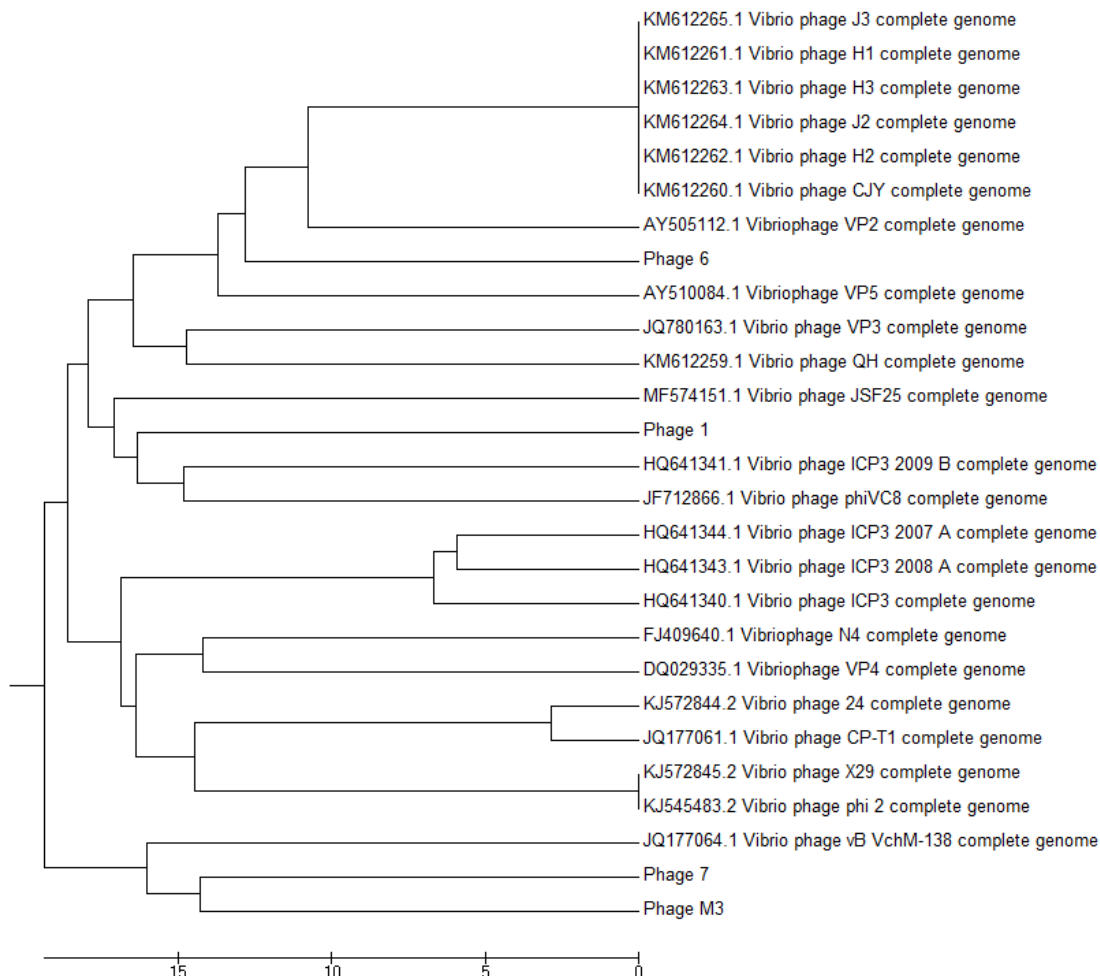


Рис. 2. Филогенетический анализ исследованных фаговых геномов.

Fig. 2. Phylogenetic analysis of genomes of the studied phages.

чатыми фагами из рода *Vibrio*, но являются уникальными, т.к. находятся «вне кластерных групп».

Экспериментальный холерный бактериофаг Rostov-1 может быть использован для дифференциации холерного вибриона O1 серогруппы биовара El Tor, а *Vibrio phage Rostov M3* — для биовара Classical. Выявлено, что оба бактериофага не содержат генетических детерминант, которые характерны для умеренных фагов. Холерные бактериофаги Rostov-1 и Rostov M3 являются литическими и перспективными компонентами для создания профилактических препаратов против холеры.

В структуре генома *Vibrio phage Rostov-6* и Rostov 7 найдены интегразы, поэтому использование фагов в профилактических препаратах исключено, т.к. они являются умеренными. Данные бактериофаги могут быть успешно использованы при мониторинге холерных вибрионов из окружающей среды, а также в экспериментальной деятельности.

Таким образом, была осуществлена биологическая и генетическая характеристика холерных бактериофагов Rostov-1, Rostov-6, Rostov 7 и Rostov M3.

Полные геномные последовательности зарегистрированы и доступны в международной базе GenBank.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Водопьянов А.С., Куриленко М.Л. и др. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2008-2017 гг. Прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (1): 36–43. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-1-36-43>
2. Centers for Disease Control and Prevention. 2010. Update: cholera outbreak – Haiti, 2010. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2010; 59(45): 1473–9.
3. Yen M., Cairns L.S., Camilli A. A cocktail of three virulent bacteriophages prevents *Vibrio cholerae* infection in animal models. *Nat. Commun.* 2017; 8: 14187. <https://doi.org/10.1038/ncomms14187>
4. D'Andrea M.M., Marmo P., Henrici De Angelis L., Palmieri M., Ciacci N., Di Lallo G., et al. ϕ BO1E, a newly discovered lytic bacteriophage targeting carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* of the pandemic Clonal Group 258 clade II lineage. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 2614. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02788-9>
5. Bhandare S.G., Warry A., Emes R.D., Hooton S.P.T., Barrow P.A., Atterbury R.J. Complete genome sequences of

- Vibrio cholerae*-specific Bacteriophages 24 and X29. *Genome Announc.* 2017; 5(46): e01013–17. <https://doi.org/10.1128/genomea.01013-17>
6. Comeau A.M., Tremblay D., Moineau S., Rattei T., Kushkina A.I., Tovkach F.I., et al. Phage morphology recapitulates phylogeny: the comparative genomics of a new group of myoviruses. *PLoS One.* 2012; 7(7): e40102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040102>
 7. Adams M.H. *Bacteriophages*. New York: Inter science Publishers; 1959.
 8. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д., ред. *Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование*. М.: Мир; 1984.
 9. Габрилович И.М. *Практическое пособие по бактериофагии*. Минск: Вышэйшая школа; 1968.
 10. Yamamoto K.R., Alberts B.M., Berzinger R., Lawhorne L., Treiber G. Rapid bacteriophage sedimentation in the presence of polyethylene glycol and its application to large-scale virus purification. *Virology.* 1970; 40(3): 734–44. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(70\)90218-7](https://doi.org/10.1016/0042-6822(70)90218-7)
 11. Andrews S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data 2010. Available at: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>
 12. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics.* 2014; 30(15): 2114–20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
 13. Song L., Florea L., Langmead B. Lighter: fast and memory-efficient sequencing error correction without counting. *Genome Biol.* 2014; 15(11): 509. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0509-9>
 14. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455–77. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
 15. Тихоненко А.С. *Ультраструктура вирусов бактерий*. М.: 1968.
 16. Ackerman H.B. Bacteriophage taxonomy in 1987. *Microbiol. Sci.* 1987; 4(7): 214–8.
 17. Comeau A.M., Tremblay D., Moineau S., Rattei T., Kushkina A.I., Tovkach F.I., et al. Phage morphology recapitulates phylogeny: the comparative genomics of a new group of myoviruses. *PLoS One.* 2012; 7(7): e40102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040102>
 18. Guidolin A., Morelli G., Kamke M., Manning P.A. *Vibrio cholerae* bacteriophage CP-T1: characterization of bacteriophage DNA and restriction analysis. *J. Virol.* 1984; 51(1): 163–9. <https://doi.org/10.1128/jvi.51.1.163-169.1984>
 3. Yen M., Cairns L.S., Camilli A. A cocktail of three virulent bacteriophages prevents *Vibrio cholerae* infection in animal models. *Nat. Commun.* 2017; 8: 14187. <https://doi.org/10.1038/ncomms14187>
 4. D'Andrea M.M., Marmo P., Henrici De Angelis L., Palmieri M., Ciacci N., Di Lallo G., et al. ϕ BO1E, a newly discovered lytic bacteriophage targeting carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* of the pandemic Clonal Group 258 clade II lineage. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 2614. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02788-9>
 5. Bhandare S.G., Warry A., Emes R.D., Hooton S.P.T., Barrow P.A., Atterbury R.J. Complete genome sequences of *Vibrio cholerae*-specific Bacteriophages 24 and X29. *Genome Announc.* 2017; 5(46): e01013–17. <https://doi.org/10.1128/genomea.01013-17>
 6. Comeau A.M., Tremblay D., Moineau S., Rattei T., Kushkina A.I., Tovkach F.I., et al. Phage morphology recapitulates phylogeny: the comparative genomics of a new group of myoviruses. *PLoS One.* 2012; 7(7): e40102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040102>
 7. Adams M.H. *Bacteriophages*. New York: Inter science Publishers; 1959.
 8. Maniatis T., Fritsch E.E., Sambrook J. *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor lab.; 1982.
 9. Габрилович И.М. *Практическое пособие по бактериофагии* [Практическое пособие по бактериофагии]. Минск: Высшейшая школа; 1968. (in Russian)
 10. Yamamoto K.R., Alberts B.M., Berzinger R., Lawhorne L., Treiber G. Rapid bacteriophage sedimentation in the presence of polyethylene glycol and its application to large-scale virus purification. *Virology.* 1970; 40(3): 734–44. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(70\)90218-7](https://doi.org/10.1016/0042-6822(70)90218-7)
 11. Andrews S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data 2010. Available at: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>
 12. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics.* 2014; 30(15): 2114–20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
 13. Song L., Florea L., Langmead B. Lighter: fast and memory-efficient sequencing error correction without counting. *Genome Biol.* 2014; 15(11): 509. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0509-9>
 14. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455–77. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
 15. Tikhonenko A.S. *Ultrastructure of Bacteria Viruses* [Ultrastructure of Bacteria Viruses]. Moscow; 1968. (in Russian)
 16. Ackerman H.B. Bacteriophage taxonomy in 1987. *Microbiol. Sci.* 1987; 4(7): 214–8.
 17. Comeau A.M., Tremblay D., Moineau S., Rattei T., Kushkina A.I., Tovkach F.I., et al. Phage morphology recapitulates phylogeny: the comparative genomics of a new group of myoviruses. *PLoS One.* 2012; 7(7): e40102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040102>
 18. Guidolin A., Morelli G., Kamke M., Manning P.A. *Vibrio cholerae* bacteriophage CP-T1: characterization of bacteriophage DNA and restriction analysis. *J. Virol.* 1984; 51(1): 163–9. <https://doi.org/10.1128/jvi.51.1.163-169.1984>

REFERENCES

1. Moskvitina E.A., Tyuleneva E.G., Kruglikov V.D., Titova S.V., Vodoplyanov A.S., Kurilenko M.L., et al. Cholera: assessment of epidemiological situation on cholera around the world and in Russia in 2008–2017. Forecast for 2018. *Problemy osobopasnykh infektsiy.* 2018; (1): 36–43. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-1-36-43> (in Russian)
2. Centers for Disease Control and Prevention. 2010. Update: cholera outbreak – Haiti, 2010. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2010; 59(45): 1473–9.

Информация об авторах

Погожова Марина Павловна[✉] — м.н.с. лаб. бактериофагов Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, m_pogozheva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9779-3577>

Гаевская Наталья Евгеньевна — к.м.н., в.н.с., и.о. зав. лаб. бактериофагов Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>

Водопьянов Алексей Сергеевич — к.м.н., и.о. зав. группой вирусологии Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Писанов Руслан Вячеславович — к.б.н., и.о. зав. лаб. диагностики особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

Анопrienko Анна Олеговна — м.н.с. лаб. бактериофагов Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8466-9315>

Романова Людмила Васильевна — д.б.н., с.н.с. лаб. биохимии микробов Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5113-7387>

Тюрина Анна Владимировна — м.н.с. лаб. бактериофагов Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9359-3997>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 15.05.2020;
принята к публикации 03.02.2021;
опубликована 20.06.2021

Information about the authors

Marina P. Pogozhova[✉] — junior researcher, Laboratory of bacteriophages, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, m_pogozheva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9779-3577>

Natalya E. Gayevskaya — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Deputy head, Laboratory of bacteriophages, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>

Alexey S. Vodopyanov — Cand. Sci. (Med.), Deputy head, Group of virology, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Ruslan V. Pisanov — Cand. Sci. (Biol.), Deputy head, Laboratory for diagnostics of especially dangerous infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

Anna O. Anoprienko — junior researcher, Laboratory of bacteriophages, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8466-9315>

Lyudmila V. Romanova — D. Sci. (Biol.), senior researcher, Microbial biochemistry laboratory, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5113-7387>

Anna V. Tyurina — junior researcher, Laboratory of bacteriophages, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9359-3997>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 15.05.2020;
accepted for publication 03.02.2021;
published 20.06.2021