

ПЕРСНИФИЦИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ БАКТЕРИОФАГАМИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ

Н.В. Гончар^{1,2}, К.Д. Ермоленко¹, Н.В. Скрипченко^{1,3}

¹Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

Personalized therapy with bacteriophages of digestive diseases

N.V. Gonchar^{1,2}, K.D. Ermolenko¹, N.V. Skripchenko^{1,3}

¹Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia

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

³Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Современные представления о тесной взаимосвязи здоровья человека и микробиоты кишечника, а также последние достижения молекулярной биологии, свидетельствующие о значимой роли виroma кишечника, способствуют проведению исследований терапевтической пользы бактериофагов.

Цель данного обзора — рассмотреть перспективы применения бактериофагов для коррекции микробиоты кишечника и терапии заболеваний органов пищеварения.

В обзоре описаны основы биологии фагов, особенно — бактериофагового виroma кишечника при гастроэнтерологической патологии; освещены вопросы современных методов терапии и профилактики на основе фагов, рассмотрены проблемы фаговой терапии и пути их преодоления. Показано, что использование фагов может стать ключевым персонализированным подходом к лечению и профилактике инфекционных и неинфекционных гастроэнтерологических заболеваний.

Ключевые слова: бактериофаги, микробиота кишечника, бактериофаговый виром кишечника, заболевания органов пищеварения, терапия.

Abstract

Current insights into the close relationship between human health and the gut microbiota, as well as recent advances in molecular biology suggesting a significant role for gut viromas, have encouraged research into the therapeutic usefulness of bacteriophages.

The purpose of this review is to consider the prospects for the use of bacteriophages for the correction of the gut microbiota and therapy of digestive system diseases.

The review describes the basics of phage biology, peculiarities of bacteriophage virome of the intestine in gastroenterological pathology; it highlights modern methods of phage-based therapy and prevention, considers problems of phage therapy and ways to overcome them. It is shown that the use of phages can become a key personalized approach to the treatment and prevention of infectious and non-infectious gastroenterological diseases.

Key words: bacteriophages, gut microbiota, bacteriophage gut virus, digestive diseases, therapy.

Введение

Одно из ведущих мест в патогенезе заболеваний органов пищеварения (функциональных гастроинтестинальных расстройств, болезни Крона, язвенного колита, неалкогольной жировой болезни печени и др.) принадлежит нарушениям состава и функций бактериальных представителей микробиоты кишечника [1, 2]. В то же время достижения молекулярной биологии свидетельствуют о значимой роли виroma кишечника, прежде всего, бактериофагов, в процессах изменения состояния микробиоты кишечника [3].

Хотя бактериофаги были открыты более века назад и использовались в качестве антибактериальных препаратов, научная разработка фаговых терапевтических препаратов несколько замедлилась в середине XX в. на фоне эйфории, связанной с появлением низкомолекулярных антибиотиков [4]. Однако повсеместное распространение мультирезистентных бактерий в последние десятилетия существенно ограничило универсальность антибиотиков в качестве основного средства этиотропной терапии [5, 6]. Современные представления о тесной взаимосвязи здоровья человека и микробиоты кишечника поставили под сомнение

применимость антибиотиков широкого спектра действия и обусловили повышение интереса к бактериофагам [7]. Методы молекулярной генетики, структурной биологии и высокопроизводительной геномики позволили выявить огромное разнообразие фагов [8], предполагающее направленное их использование против большинства патогенных бактерий и возможность контроля микробиоты кишечника путем воздействия на определенные виды бактерий [9].

Цель исследования — рассмотреть перспективы применения бактериофагов для коррекции микробиоты кишечника и персонализированной терапии заболеваний органов пищеварения.

Основы биологии бактериофагов

Бактериофаги, или фаги (от древнегреческого *φαῖω* — «пожираю») — вирусы, поражающие бактериальные клетки, широко распространены в естественных средах, богатых бактериями, включая почву, водоемы, тело человека [10]. Фаги классифицируются соответственно своей структуре, устанавливаемой по данным методов электронной микроскопии и геномного секвенирования [11]. Как правило, состоят из белкового капсида, содержащего геномную нуклеиновую кислоту в виде линейной двухцепочечной ДНК, линейной одноцепочечной или двухцепочечной РНК или кольцевой одноцепочечной ДНК [12]. Подавляющее большинство ДНК-фагов микробиоты кишечника человека принадлежат к порядку *Caudovirales*, содержащих линейные двухцепочечные ДНК и образующие три разных семейства в зависимости от структуры хвоста: *Siphoviridae* (с гибким хвостом), *Myoviridae* (с сократительным хвостом) и *Podoviridae* (с коротким хвостом) [13]. Хвосты и связанные с ними хвостовые волокна представляют собой аппарат, который определяет целевую специфичность вириона по отношению к патогенным бактериям и обеспечивает эффективность их поражения. Микробиота кишечника человека также содержит значительное количество очень мелких фагов, относящихся к семейству *Microviridae*, не имеющих хвостовых структур [14].

По характеру взаимодействия с бактериальной клеткой различают вирулентные и умеренные фаги [15]. Вирулентные фаги (например, *E. coli* фаг Т4) следуют только литическому пути размножения, который начинается со специфической адсорбции на рецепторы бактериальной поверхности [16]. Затем происходит внедрение ДНК фага в цитоплазму хозяина, где осуществляется программа репликации ДНК и экспрессии генов, сборка вирионов и выпуск инфекционных фаговых частиц во время лизиса хозяина [17]. Умеренные бактериофаги (например, *E. coli* фаг

Х), адсорбируясь на рецепторы хозяина, подвергаются лизогении [18], при которой происходит либо выключение экспрессии вирусных генов репрессором, кодируемым фагом или спящим профагом, либо интеграция в хромосому хозяина, либо образование самовоспроизводящейся плазмиды [19]. В результате образованная лизогенная клетка становится невосприимчивой к дальнейшей инфекции тем же фагом [20]. При лизогении вирусный геном реплицируется синхронно с ДНК хозяина и делением клетки, а бактериофаг в подобном состоянии называется профагом. Профаги способны пассивно переноситься бактериальным хозяином неограниченно долгое время, при этом они могут нести гены, усиливающие патогенность хозяина и защищающие его от других фагов [21]. Переход от лизогении к лизису называется лизогенной индукцией или индукцией профага [22]. В ненарушенной планктонной культуре все лизогенные штаммы бактерий спонтанно продуцируют определенные концентрации свободных вирионов [23]. Круг хозяев фагов обычно ограничен одним видом бактерий (это определяет важное свойство бактериофагов — специфичность), хотя не исключается, что встречаются поливалентные бактериофаги, паразитирующие в бактериях разных видов. Спектр хозяев зависит, главным образом, от особенностей рецепторов на поверхности бактерий, антифаговых систем, обеспечивающих ингибирование проникновения ДНК фагов в бактериальную клетку, разрушение фаговой ДНК, ингибирование экспрессии фагового гена, а также лизис инфицированной клетки [24]. Фаги, в свою очередь, противодействуют факторам антифаговой защиты бактерий, используя молекулярные и генетические механизмы [25].

Бактериофаговый виром кишечника здоровых людей

Хотя установлено, что бактериальный микробиом кишечника быстро приобретает форму после рождения, о вирусном микробиоме, состоящем из бактериофагов и эукариотических РНК- и ДНК-вирусов, известно меньше [26]. Фаговый виром кишечника состоит из профагов в бактериальных клетках, а также из свободных вирионов или вирусоподобных частиц. Имеются данные, что в первые два года жизни бактериальный микробиом и эукариотический виром быстро увеличиваются, что коррелирует с сокращением и изменением состава бактериофагового вирома [27]. В настоящее время точное определение состава последнего весьма проблематично по разным причинам. В частности, *Caudovirales*, ведущие умеренный образ жизни, имеют очень мозаичные геномы, что затрудняет отнесение той или иной прочитанной последовательности к конкретному фагу [28]. Сле-

дует также учитывать, что различные протоколы выделения фагов приводят к различиям результатов исследований [29]. Кроме того, имеются доказательства возможности существования «носительства» у отдельных фагов, когда они находятся в «спящем» состоянии и не интегрированы в геном хозяина [30].

Бактериофаговый виром кишечника при гастроэнтерологической патологии

Учитывая, что дисбактериоз кишечника сопровождается заболеваниями желудочно-кишечного тракта и печени [31], можно ожидать изменений состава бактериофагового вирома в зависимости от той или иной патологии [32]. Действительно у пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом, в отличие от здоровых лиц, выявляли более высокую относительную численность *Caudovirales* по сравнению с *Microviridae*, а также отмечали разницу в составе семейств *Caudovirales* при метагеномном секвенировании ДНК-вирусоподобных частиц из образцов фекалий [33]. Пациенты с болезнью Крона чаще имели относительно более умеренные фаги; изменения вирома отражались на бактериальной микробиоте. Например, у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) был снижен уровень *Firmicutes* и повышены уровни фагов, нацеленных на *Firmicutes* [33]. Сравнение результатов метагеномного секвенирования вирусоподобных частиц, полученных из образцов фекалий пациентов с синдромом раздраженного кишечника (СРК) и здоровых лиц, показало, что пациенты с СРК имели менее разнообразный виром, но сдвига от литических к умеренным фагам при СРК не наблюдалось [34]. Однако виromы образцов слизистой оболочки толстой кишки пациентов с болезнью Крона отличались повышенным содержанием вирусоподобных частиц по сравнению с образцами слизистой оболочки толстой кишки здоровых людей [35]. Виromы слизистой оболочки прямой кишки пациентов с язвенным колитом также имели более высокую относительную численность, но меньшее разнообразие фагов *Caudovirales*, чем у здоровых лиц [36], что соответствовало результатам анализа образцов фекалий [37]. Изменения состава энтерального вирома, установленного с помощью метагеномного секвенирования образцов фекалий, отмечали и у пациентов с колоректальным раком (КРР); при этом были выявлены виромные сигнатуры, отличающиеся от таковых у здоровых людей, и обнаружены четыре таксономических маркера, ассоциированных со смертностью больных КРР [38].

Исследования бактериофагов кишечника у пациентов с заболеваниями печени показали, что при алкогольном гепатите в образцах фекалий наблюдалось более высокое разнообразие фагов по

сравнению с таковым у лиц, не употребляющих алкоголь [39]. Фаги *Escherichia* и *Enterococcus* были чрезмерно представлены у пациентов с алкогольным гепатитом, а повышенное содержание фагов *Staphylococcus* коррелировало с более высокой тяжестью заболевания [39]. В то же время у пациентов с тяжелой формой неалкогольной жировой болезни печени наблюдалось снижение разнообразия фагов в кишечнике [40]. Однако полученные результаты ограничиваются очень широкими категориями фагов, а не конкретными типами и не фагами конкретных хозяев. Анализ приведенных данных свидетельствует о необходимости дальнейших исследований, чтобы определить, способны ли изменения бактериофагового вирома вызывать развитие или прогрессирование органической и функциональной гастроэнтерологической патологии или они есть результат имеющегося патологического процесса.

Современный потенциал терапии и профилактики на основе фагов

В последние два десятилетия внимание к бактериофагам вновь активизировалось [41, 42]. Проводятся исследования по использованию фагов для лечения кишечных инфекций, оценивается их безопасность и клиническая эффективность [43]. Так, изучение терапевтического значения *E. coli* T4-подобных фагов при бактериальной диарее у взрослых и детей не выявило каких-либо нежелательных побочных явлений, но и эффективности не было отмечено, что, по мнению авторов, могло быть обусловлено недостаточно высокими дозами бактериофагов [44]. В экспериментальных исследованиях на лабораторных животных была показана перспективность применения фагов для снижения интенсивности колонизации кишечника при заражении *V. cholerae* и для профилактики холероподобной диареи [45].

И всё же значительно больший научный и практический интерес сегодня вызывают стратегии коррекции микробиоты кишечника или стратегии прецизионного (высокоточного) ее редактирования с помощью фагов у больных с патологией кишечника и патологией печени. В двух плацебо-контролируемых исследованиях оценивался эффект терапевтического влияния коктейля PreforPro, состоящего из 4 фагов, применявшегося как совместно с пробиотическим штаммом *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BL04, так и без него, на улучшение состава бактериальной составляющей микробиоты кишечника [46, 47]. В этих исследованиях принимали участие пациенты, у которых наблюдались невыраженные расстройства желудочно-кишечного тракта неинфекционной природы. По результатам испытаний PreforPro установлена его безопасность, но доказательства

клинической эффективности признаны неоднозначными.

Данные экспериментальных исследований на лабораторных мышах показали, что фаги против адгезивно-инвазивных штаммов *E. coli*, имеющих значение в патогенезе ВЗК, могут быть использованы в качестве варианта лечения [48]. В настоящее время проводится рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование (I/II-а фазы) по оценке безопасности и эффективности перорального применения фагового коктейля EsoEctive, направленного против адгезивно-инвазивных штаммов *E. coli* у пациентов с болезнью Крона в стадии ремиссии (NCT03808103).

Установлено, что в образцах фекалий пациентов с алкогольным гепатитом значительно повышен уровень *Enterococcus faecalis*. Наличие штаммов *E. faecalis*, продуцирующих экзотоксин цитолизин, коррелирует с неблагоприятными исходами и смертностью у пациентов с алкогольным гепатитом [49]. Пероральное введение цитолизин-положительных штаммов *E. faecalis* усугубляло вызванное этанолом поражение печени у лабораторных мышей. Чтобы распространить эти результаты на людей, гнотобиотических мышей колонизировали образцами фекалий цитолизин-положительных и цитолизин-отрицательных пациентов с алкогольным гепатитом. У мышей, получавших перорально фаги, специфически направленные против цитолизин-положительных *E. faecalis*, уменьшились проявления поражения печени, вызванные этанолом, тогда как у мышей, получавших фаги против цитолизин-отрицательных *E. faecalis*, не наблюдалось никаких положительных эффектов. Описанное исследование можно рассматривать как один из первых документированных примеров прецизионного редактирования микробиоты кишечника путем экстирпации субпопуляции *E. faecalis* [49]. Для подтверждения полученных данных необходимы исследования с участием пациентов, страдающих алкогольным гепатитом.

Как показали доклинические исследования, ряд бактерий микробиоты кишечника, в частности, *Streptococcus gallolyticus* subsp., *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *E. coli* и *E. faecalis*, связаны с развитием и прогрессированием КРР [50]. Конечно, для подтверждения причинно-следственной связи между бактериями кишечника и КРР требуются дополнительные исследования. Тем не менее, опосредованную бактериофагами высокоточную коррекцию микробиоты кишечника, по-видимому, стоит изучать как прогрессивный метод лечения. При этом для целенаправленного воздействия на бактерии-хозяева важно идентифицировать рецепторы фагов.

Фаги могут не только точно редактировать микробиоту кишечника, но и доставлять лекарства в определенное место. С появлением мощных инструментов для инженерии фагов, создаются возможности «прикрепления» медикаментозных препаратов к поверхности фага и доставки их в «место назначения». Это означает, что таргетное введение высоких доз лекарственных средств позволит снизить концентрацию препаратов в системе циркуляции и уменьшить токсическое воздействие на нецелевые ткани [51]. В ряде доклинических исследований проверен такой подход терапии. Фаги, способные нацеливаться на *Staphylococcus aureus*, обеспечивали высокие локальные концентрации хлорамфеникола, достаточные для подавления роста ранее устойчивых бактериальных клеток. Пероральное введение фагов, покрытых иринотеканом, снижало численность *F. nucleatum*, способствующих формированию устойчивости КРР к химиотерапии у мышей [52]. Идея доставки лекарств, опосредованная фагами, имеет перспективы для широкого практического применения. Показано, что бактериофаги, направленные на патогенные *F. nucleatum*, но ковалентно связанные с наночастицами декстрана, способствовали пролиферации *Clostridium butyricum*, что увеличивало уровень короткоцепочечных жирных кислот в кишечнике у мышей и подавляло рост опухоли [52]. Таким образом, многофункциональные фаговые частицы могут быть использованы для повышения эффективности лечения путем модуляции кишечной микробиоты (то есть уменьшения количества патогенных бактерий и стимулирования роста полезных бактерий).

Проблемы фаговой терапии и пути их преодоления

В большинстве исследований терапия на основе фагов признана безопасной. Однако в одном исследовании на модели мыши было установлено, что нитчатые фаги *Pseudomonas* могут напрямую взаимодействовать с лейкоцитами человека, при этом продуцируется фаговая РНК, стимулирующая выработку интерферона [53]. Данное наблюдение показало, что нитчатые фаги могут взаимодействовать с иммунной системой человека и оказывать непосредственное влияние на его здоровье. Учитывая длительное присутствие бактерий и фагов в кишечнике млекопитающих, не будет удивительным узнать, что фаги способны к многочисленным взаимодействиям с иммунной системой человека и другими разнообразными типами клеток. На мышинных моделях воспаления и дисбактериоза кишечника было обнаружено, что перорально введенные фаги могут стимулировать выработку воспалительных цитокинов и вызывать воспалительные процессы [54]. В других работах

введение фагов *in vitro* либо не влияло на воспалительный ответ, либо оказывало противовоспалительное действие на клетки млекопитающих [55].

В то же время высокая специфичность фагов представляет потенциальную проблему, поскольку узкий круг хозяев может ограничить широкое терапевтическое применение. Поэтому создание фагового коктейля, состоящего из нескольких фагов, каждый из которых нацелен на разные рецепторы, может быть одним из вариантов подхода к терапии. При этом, согласно существующим рекомендациям, безопасность каждого отдельного фага и каждой комбинации фагов должна быть научно доказана [56]. Одна из возможных стратегий фаговой терапии предполагает обучение фага, или адаптацию. Это процесс отбора эволюционировавших фагов с широким диапазоном хозяев или способных преодолеть бактериальную устойчивость с помощью экспериментальных лабораторных процедур. Фаги, которые направлены против нескольких хозяев, могут быть получены путем многократных раундов селекции с использованием различных бактериальных изолятов или устойчивых мутантов [57]. Идентифицировав белки фага, отвечающие за распознавание хозяина, можно внести генетические изменения, чтобы расширить ареал обитания хозяина или снизить вероятность возникновения устойчивости к фагу [58].

Критическими моментами фаготерапии считают тестирование пациентов на наличие целевого бактериального хозяина в кишечнике, подтверждение его чувствительности к выбранным фагам и определение оптимальной дозы назначаемых бактериофагов. Многочисленные исследования показали безопасность относительно высоких доз фагов, вводимых перорально или внутривенно (10^9 PFU). Задачу поддержания достаточного количества фагов для терапевтических целей можно решить путем модификаций белков фагового капсида; подобные изменения могут способствовать продлению периода полужизни фагов за счет уменьшения интенсивности их фагоцитоза [59].

Фаги считают лекарственными препаратами в США и Евросоюзе; в отношении их производства и разрешения на продажу действуют очень строгие ограничения, такие же, как при соблюдении «надлежащей производственной практики» (Good Manufacturing Practice, GMP) [60]. В 2018 г. правительство Бельгии отнесло терапевтические фаги к рецептурным препаратам. В европейском законодательстве «рецептурный препарат» определяется как «любое лекарственное средство, приготовленное в аптеке в соответствии с медицинским рецептом для конкретного пациента». Сегодня фаги могут рассматриваться в качестве эффективных и безопасных лекарственных средств, учитывая их широкое распространение в окружающей сре-

де и в организме человека и их принципиальную неспособность поражать ткани человека. Вместе с тем, очевидно, что фаговая терапия требует соблюдения специфических правил и норм, которые отличаются от тех, которые используются для стандартной лекарственной терапии.

Заключение

Бактериофаги рассматривают не только как мощное оружие против возбудителей бактериальных инфекций, но и как средства, способные корригировать негативные изменения микробиоты кишечника и обладающие многообещающими терапевтическими возможностями при различных гастроэнтерологических заболеваниях. Активному применению фаготерапии будет способствовать решение вопросов о пользе и вреде эффектов потенциального взаимодействия фагов с человеком, о путях эволюции природы фагов и долгосрочном влиянии на здоровье фаг-модулированной микробиоты кишечника. В целом, использование фагов может стать ключевым персонализированным подходом к лечению и профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний, поэтому заслуживает внимания врачей и дальнейшего изучения учеными.

Литература

1. Young V.B. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ*. 2017; 356: j831.
2. Феклисова, Л.В. Дисбиотические нарушения слизистых оболочек ротоглотки у детей с рекуррентными респираторными заболеваниями в различные периоды / Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева // *Инфекционные болезни*. — 2016. — Т. 14, № 2. — С. 24 — 28.
3. Shkoporov A.N., Hill C. Bacteriophages of the human gut: the “known unknown” of the microbiome. *Cell Host Microbe*. 2019; 25 (2): 195 — 209.
4. Summers W.C. Bacteriophage therapy. *Annu. Rev. Microbiol.* 2001; 55: 437 — 451.
5. Aminov R. History of antimicrobial drug discovery: major classes and health impact. *Biochem. Pharmacol.* 2017; 133: 4 — 19.
6. Николаева, С.В. Что нужно знать об антибактериальной терапии респираторных инфекций у детей. Правильный старт — успешный финиш / С.В. Николаева [и др.] // *Инфекционные болезни*. 2020. — Т. 18, № 4. — С. 195 — 200.
7. Becattini S., Taur Y., Pamer E.G. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol. Med.* 2016; 22 (6): 458 — 478.
8. Mushegian A.R. Are there 10^{31} virus particles on earth, or more, or fewer? *J. Bacteriol.* 2020; 202 (9): e00052-20.
9. Duan Y., Young R., Schnabl B. Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00536-z>.
10. Pratama A.A., van Elsas J.D. The “neglected” soil virome-potential role and impact. *Trends Microbiol.* 2018; 26 (8): 649 — 662.
11. Dion M.B., Oechslin F., Moineau S. Phage diversity, genomics and phylogeny. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18 (3): 125 — 138.

12. Hatfull G.F. Bacteriophage genomics. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 11 (5): 447 – 453.
13. Al-Shayeb B., Sachdeva R., Chen L.-X., et al. Clades of huge phages from across earth's ecosystems. *Nature*. 2020; 578 (7795): 425 – 431.
14. Gregory A.C., Zablocki O., Zayed A.A., et al. The gut virome database reveals age-dependent patterns of virome diversity in the human gut. *Cell Host Microbe*. 2020; 28 (5): 724 – 740.
15. Ofir G., Sorek R. Contemporary phage biology: from classic models to new insights. *Cell*. 2018; 172 (6): 1260 – 1270.
16. Silva J.B. Storms Z., Sauvageau D. Host receptors for bacteriophage adsorption. *FEMS Microbiol. Lett.* 2016; 363 (4): fnw002.
17. Young R. Bacteriophage lysis: mechanism and regulation. *Microbiol. Rev.* 1992; 56 (3): 430 – 481.
18. Dou C., Xiong J., Gu Y., et al. Structural and functional insights into the regulation of the lysis-lysogeny decision in viral communities. *Nat. Microbiol.* 2018; 3 (11): 1285 – 1294.
19. Howard-Varona C., Hargreaves K.R., Abedon S.T., Sullivan M.B. Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *ISMEJ*. 2017; 11 (7): 1511 – 1520.
20. Bondy-Denomy J., Qian J., Westra E.R., et al. Prophages mediate defense against phage infection through diverse mechanisms. *ISMEJ*. 2016; 10: 2854 – 2866.
21. Fortier L.C., Sekulovic O. Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. *Virulence*. 2013; 4 (5): 354 – 365.
22. Alexeeva S., Guerra Martinez J.A., Spus M., Smid E.J. Spontaneously induced prophages are abundant in a naturally evolved bacterial starter culture and deliver competitive advantage to the host. *BMC Microbiol.* 2018; 18 (1): 120.
23. Nanda A.M., Thormann K., Frunzke J. Impact of spontaneous prophage induction on the fitness of bacterial populations and host-microbe interactions. *J. Bacteriol.* 2015; 197 (3): 410 – 419.
24. Labrie S.J., Samson J.E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8: 317 – 327.
25. Dufour N., Clermont O., La Combe B., et al. Bacteriophage LM33_P 1, a fast-acting weapon against the pandemic ST 131-025b:H4 *Escherichia coli* clonal complex. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71 (11): 3072–3080.
26. Liang G., Zhao C., Zhang H., et al. The stepwise assembly of the neonatal virome is modulated by breastfeeding. *Nature*. 2020; 581 (7809): 470 – 474.
27. Lim E.S., Wang D., Holtz L.R. The bacterial microbiome and virome milestones of infant development. *Trends Microbiol.* 2016; 24 (10): 801 – 810.
28. Shapiro J.W., Putonti C. Gene co-occurrence networks reflect bacteriophage ecology and evolution. *mBio*. 2018; 9 (2): eO1870 – 1917.
29. Santiago-Rodriguez T.M., Hollister E.B. Human virome and disease: high-throughput sequencing for virus discovery, identification of phage-bacteria dysbiosis and development of therapeutic approaches with emphasis on the human gut. *Viruses*. 2019; 11: 656.
30. Pourcel C., Midoux C., Vergnaud G., Latino L. A carrier state is established in *Pseudomonas aeruginosa* by phage LeviOrOI, a newly isolated ssRNA levivirus. *J. Gen. Virol.* 2017; 98 (8): 2181 – 2189.
31. Tripathi A., Debelius J., Brenner D.A., et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2018; 15 (7): 397 – 411.
32. Алексанина, Н.В. Фагорезистентность условно-патогенных бактерий кишечной микробиоты у детей с нарушениями микробиоценоза / Н.В. Алексанина, Т.И. Твердохлебова // Журнал инфектологии. – 2021. – Т. 13, № 2. – С. 102 – 107.
33. Clooney A.G., Sutton T.D.S., Shkoporov A.N., et al. Whole-virome analysis sheds light on viral dark matter in inflammatory bowel disease. *Cell Host Microbe*. 2019; 26 (6): 764 – 778.
34. Coughlan S., Das A., O'Herlihy E., et al. The gut virome in irritable bowel syndrome differs from that of controls. *Gut Microbes*. 2021; 13 (1): 1 – 15.
35. Lepage P., Colombet J., Marteau P., et al. Dysbiosis in inflammatory bowel disease: a role for bacteriophages? *Gut*. 2008; 57 (3): 424 – 425.
36. Zuo T., Lu X.-J., Zhang Y., et al. Gut mucosal virome alterations in ulcerative colitis. *Gut*. 2019; 68 (7): 1169 – 1179.
37. Norman J.M., Handley S.A., Baldridge M.T., et al. Disease-specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell*. 2015; 160 (3): 447 – 460.
38. Nakatsu G., Zhou H., Wu K.K.W., et al. Alterations in enteric virome are associated with colorectal cancer and survival outcomes. *Gastroenterology*. 2018; 155 (2): 529 – 541.e5.
39. Jiang L., Lang S., Duan Y., et al. Intestinal virome in patients with alcoholic hepatitis. *Hepatology*. 2020; 72 (6): 2182 – 2196.
40. Lang S., Demir M., Wisplinghoff H., et al. Intestinal virome signature associated with severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2020; 159 (5): 1839 – 1852.
41. Саперкин, Н.В. Эффективность использования бактериофагов для лечения и профилактики инфекции: систематический обзор / Н.В. Саперкин [и др.] // Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11, № 4. – С. 19 – 30.
42. Асланов, Б.И. Бактериофаги как эффективные противозoonотические средства для купирования вспышек внутрибольничных инфекций / Б.И. Асланов, А.В. Любимова, Л.П. Зуева // Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11, № 1. – С. 65 – 70.
43. Sarker S.A., Berger B., Deng Y., et al. Oral application of *Escherichia coli* bacteriophage: safety tests in healthy and diarrheal children from Bangladesh. *Environ. Microbiol.* 2017; 19 (1): 237 – 250.
44. Sarker S.A., Sultana S., Reuteler G., et al. Oral phage therapy of acute bacterial diarrhea with two coliphage preparations: a randomized trial in children from Bangladesh. *EBioMedicine*. 2016; 4: 124 – 137.
45. 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.
46. Gindin M., Febvre H.P., Rao S., et al. Bacteriophage for Gastrointestinal Health (PHAGE) study: evaluating the safety and tolerability of supplemental bacteriophage consumption. *J. Am. Coll. Nutr.* 2019; 38 (1): 68 – 75.
47. Grubb D.S., Wrigley S.D., Freedman K., et al. PHAGE-2 study: supplemental bacteriophages extend *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL04 benefits on gut health and microbiota in healthy adults. *Nutrients*. 2020; 12 (8): 2474.
48. Galtier M., De Sordi L., Sivignon A., et al. Bacteriophages targeting adherent invasive *Escherichia coli* strains as a promising new treatment for Crohn's disease. *J. Crohn's Colitis*. 2017; 11 (7): 840 – 847.
49. Duan Y., Llorente C., Lang S., et al. Bacteriophage targeting of gut bacterium attenuates alcoholic liver disease. *Nature*. 2019; 575 (7783): 505 – 511.
50. Wirbel J., Pyl P.T., Kartal E., et al. Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. *Nat. Med.* 2019; 25 (4): 679 – 689.
51. Yacoby I., Bar H., Benhar I. Targeted drug-carrying bacteriophages as antibacterial nanomedicines. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51 (6): 2156 – 2163.
52. Zheng D.W., Dong X., Pan P., et al. Phage-guided modulation of the gut microbiota of mouse models of colorectal can-

cer augments their responses to chemotherapy. *Nat. Biomed. Eng.* 2019; 3 (9): 717 – 728.

53. Sweere J.M., Van Belleghem J.D., Ishak H., et al. Bacteriophage trigger antiviral immunity and prevent clearance of bacterial infection. *Science*. 2019; 363 (6434): eaat9691.

54. Gogokhia L., Buhrke K., Bell R., et al. Expansion of bacteriophages is linked to aggravated intestinal inflammation and colitis. *Cell Host Microbe*. 2019; 25 (2): 285 – 299.e8.

55. Zhang L., Hou X., Sun L., et al. *Staphylococcus aureus* bacteriophage suppresses LPS-induced inflammation in MAC-T bovine mammary epithelial cells. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1614.

56. Merabishvili M., Pirnay J.P., De Vos D. In Bacteriophage therapy: From Lab to Clinical Practice (eds Azeredo J., Sillankorva S.). Springer, 2018: 99 – 110.

57. Friman V.P., Soanes-Brown D., Sierocinski P., et al. Pre-adapting parasitic phages to a pathogen leads to increased pathogen clearance and lowered resistance evolution with *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis bacterial isolates. *J. Evolut. Biol.* 2016; 29 (1): 188 – 198.

58. Dunne M., Rupf B., Tala M., et al. Reprogramming bacteriophage host range through structure-guided design of chimeric receptor binding proteins. *Cell Rep.* 2019; 29 (5): 1336 – 1350.

59. Capparelli R., Parlato M., Borriello G., et al. Experimental phage therapy against *Staphylococcus aureus* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51 (8): 2765 – 2773.

60. Fauconnier A. In Bacteriophage therapy: From Lab to Clinical Practice (eds Azeredo, J. & Sillankorva, S.). Springer, 2018: 253 – 268.

References

1. Young V.B. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ*. 2017; 356: j831.

2. Feklisova L.V., Medvedeva E.A. Disbioticheskie narusheniya slizistykh obolochek rotoglotki u detej c rekurrentnyimi respiratornyimi zabolevaniyami v razlichny'e periody. *Infekcionny'e bolezni*. 2016; 14(2): 24 – 28 (in Russian)

3. Shkoporov A.N., Hill C. Bacteriophages of the human gut: the “known unknown” of the microbiome. *Cell Host Microbe*. 2019; 25 (2): 195 – 209.

4. Summers W.C. Bacteriophage therapy. *Annu. Rev. Microbiol.* 2001; 55: 437 – 451.

5. Aminov R. History of antimicrobial drug discovery: major classes and health impact. *Biochem. Pharmacol.* 2017; 133: 4 – 19.

6. Nikolaeva S.V., Usenko D.V., Shabalina S.V., et al. Chto nuzhno znat' ob antibakterial'noj terapii respiratornykh infekcij u detej. *Pravil'nyj start — uspeshnyj finish. Infekcionny'e bolezni*. 2020; 18(4): 195 – 200 (in Russian)

7. Becattini S., Taur Y., Pamer E.G. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol. Med.* 2016; 22 (6): 458 – 478.

8. Mushegian A.R. Are there 10^{31} virus particles on earth, or more, or fewer? *J. Bacteriol.* 2020; 202 (9): e00052-20.

9. Duan Y., Young R., Schnabl B. Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases [Internet]. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00536-z>.

10. Pratama A.A., van Elsland J.D. The “neglected” soil virome-potential role and impact. *Trends Microbiol.* 2018; 26 (8): 649 – 662.

11. Dion M.B., Oechslin F., Moineau S. Phage diversity, genomics and phylogeny. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020; 18 (3): 125 – 138.

12. Hatfull G.F. Bacteriophage genomics. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 11 (5): 447 – 453.

13. Al-Shayeb B., Sachdeva R., Chen L.-X., et al. Clades of huge phages from across earth's ecosystems. *Nature*. 2020; 578 (7795): 425 – 431.

14. Gregory A.C., Zablocki O., Zayed A.A., et al. The gut virome database reveals age-dependent patterns of virome diversity in the human gut. *Cell Host Microbe*. 2020; 28 (5): 724 – 740.

15. Ofir G., Sorek R. Contemporary phage biology: from classic models to new insights. *Cell*. 2018; 172 (6): 1260 – 1270.

16. Silva J.B. Storms Z., Sauvageau D. Host receptors for bacteriophage adsorption. *FEMS Microbiol. Lett.* 2016; 363 (4): fnw002.

17. Young R. Bacteriophage lysis: mechanism and regulation. *Microbiol. Rev.* 1992; 56 (3): 430 – 481.

18. Dou C., Xiong J., Gu Y., et al. Structural and functional insights into the regulation of the lysis-lysogeny decision in viral communities. *Nat. Microbiol.* 2018; 3 (11): 1285 – 1294.

19. Howard-Varona C., Hargreaves K.R., Abedon S.T., Sullivan M.B. Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *ISMEJ*. 2017; 11 (7): 1511 – 1520.

20. Bondy-Denomy J., Qian J., Westra E.R., et al. Prophages mediate defense against phage infection through diverse mechanisms. *ISMEJ*. 2016; 10: 2854 – 2866.

21. Fortier L.C., Sekulovic O. Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. *Virulence*. 2013; 4 (5): 354 – 365.

22. Alexeeva S., Guerra Martinez J.A., Spus M., Smid E.J. Spontaneously induced prophages are abundant in a naturally evolved bacterial starter culture and deliver competitive advantage to the host. *BMC Microbiol.* 2018; 18 (1): 120.

23. Nanda A.M., Thormann K., Frunzke J. Impact of spontaneous prophage induction on the fitness of bacterial populations and host-microbe interactions. *J. Bacteriol.* 2015; 197 (3): 410 – 419.

24. Labrie S.J., Samson J.E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8: 317 – 327.

25. Dufour N., Clermont O., La Combe B., et al. Bacteriophage LM33_P 1, a fast-acting weapon against the pandemic ST 131-025b:H4 *Escherichia coli* clonal complex. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71 (11): 3072–3080.

26. Liang G., Zhao C., Zhang H., et al. The stepwise assembly of the neonatal virome is modulated by breastfeeding. *Nature*. 2020; 581 (7809): 470 – 474.

27. Lim E.S., Wang D., Holtz L.R. The bacterial microbiome and virome milestones of infant development. *Trends Microbiol.* 2016; 24 (10): 801 – 810.

28. Shapiro J.W., Putonti C. Gene co-occurrence networks reflect bacteriophage ecology and evolution. *mBio*. 2018; 9 (2): e01870 – 1917.

29. Santiago-Rodriguez T.M., Hollister E.B. Human virome and disease: high-throughput sequencing for virus discovery, identification of phage-bacteria dysbiosis and development of therapeutic approaches with emphasis on the human gut. *Viruses*. 2019; 11: 656.

30. Pourcel C., Midoux C., Vergnaud G., Latino L. A carrier state is established in *Pseudomonas aeruginosa* by phage LeviOrOI, a newly isolated ssRNA levivirus. *J. Gen. Virol.* 2017; 98 (8): 2181 – 2189.

31. Tripathi A., Debelius J., Brenner D.A., et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2018; 15 (7): 397 – 411.

32. Aleksanina N.V., Tverdoxlebova T.I. Fagorezistentnost' uslovno-patogennykh bakterij kishechnoj mikrobioty u detej s narusheniyami mikrobiocenoza. *Zhurnal infektologii*. 2021; 13 (2): 102 – 107 (in Russian)

33. Clooney A.G., Sutton T.D.S., Shkoporov A.N., et al. Whole-virome analysis sheds light on viral dark matter in inflammatory bowel disease. *Cell Host Microbe*. 2019; 26 (6): 764 – 778.

34. Coughlan S., Das A., O'Herlihy E., et al. The gut virome in irritable bowel syndrome differs from that of controls. *Gut Microbes*. 2021; 13 (1): 1 – 15.
35. Lepage P., Colombet J., Marteau P., et al. Dysbiosis in inflammatory bowel disease: a role for bacteriophages? *Gut*. 2008; 57 (3): 424 – 425.
36. Zuo T., Lu X.-J., Zhang Y., et al. Gut mucosal virome alterations in ulcerative colitis. *Gut*. 2019; 68 (7): 1169 – 1179.
37. Norman J.M., Handley S.A., Baldridge M.T., et al. Disease-specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell*. 2015; 160 (3): 447 – 460.
38. Nakatsu G., Zhou H., Wu K.K.W., et al. Alterations in enteric virome are associated with colorectal cancer and survival outcomes. *Gastroenterology*. 2018; 155 (2): 529 – 541.e5.
39. Jiang L., Lang S., Duan Y., et al. Intestinal virome in patients with alcoholic hepatitis. *Hepatology*. 2020; 72 (6): 2182 – 2196.
40. Lang S., Demir M., Wisplinghoff H., et al. Intestinal virome signature associated with severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2020; 159 (5): 1839 – 1852.
41. Saperkin N.V., Kovalishina O.V., Kvashnina D.V., et al. E'fektivnost' ispol'zovaniya bakteriofagov dlya lecheniya i profilaktiki infekcii: sistematicheskij obzor. *Zhurnal infektologii*. 2019; 11 (4): 19 – 30 (in Russian)
42. Aslanov B.I., Lyubimova A.V., Zueva L.P. Bakteriofagi kak e'fektivny'e protivoe'pidemicheskie sredstva dlya kupirovaniya vspy'shek vnutribol'nichny'x infekcij. *Zhurnal infektologii*. 2019; 11 (1): 65 – 70. (In Russian)
43. Sarker S.A., Berger B., Deng Y., et al. Oral application of *Escherichia coli* bacteriophage: safety tests in healthy and diarrheal children from Bangladesh. *Environ. Microbiol.* 2017; 19 (1): 237 – 250.
44. Sarker S.A., Sultana S., Reuteler G., et al. Oral phage therapy of acute bacterial diarrhea with two coliphage preparations: a randomized trial in children from Bangladesh. *EBio-Medicine*. 2016; 4: 124 – 137.
45. 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.
46. Gindin M., Febvre H.P., Rao S., et al. Bacteriophage for Gastrointestinal Health (PHAGE) study: evaluating the safety and tolerability of supplemental bacteriophage consumption. *J. Am. Coll. Nutr.* 2019; 38 (1): 68 – 75.
47. Grubb D.S., Wrigley S.D., Freedman K., et al. PHAGE-2 study: supplemental bacteriophages extend *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL04 benefits on gut health and microbiota in healthy adults. *Nutrients*. 2020; 12 (8): 2474.
48. Galtier M., De Sordi L., Sivignon A., et al. Bacteriophages targeting adherent invasive *Escherichia coli* strains as a promising new treatment for Crohn's disease. *J. Crohn's Colitis*. 2017; 11 (7): 840 – 847.
49. Duan Y., Llorente C., Lang S., et al. Bacteriophage targeting of gut bacterium attenuates alcoholic liver disease. *Nature*. 2019; 575 (7783): 505 – 511.
50. Wirbel J., Pyl P.T., Kartal E., et al. Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. *Nat. Med.* 2019; 25 (4): 679 – 689.
51. Yacoby I., Bar H., Benhar I. Targeted drug-carrying bacteriophages as antibacterial nanomedicines. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51 (6): 2156 – 2163.
52. Zheng D.W., Dong X., Pan P., et al. Phage-guided modulation of the gut microbiota of mouse models of colorectal cancer augments their responses to chemotherapy. *Nat. Biomed. Eng.* 2019; 3 (9): 717 – 728.
53. Sweere J.M., Van Belleghem J.D., Ishak H., et al. Bacteriophage trigger antiviral immunity and prevent clearance of bacterial infection. *Science*. 2019; 363 (6434): eaat9691.
54. Gogokhia L., Buhrke K., Bell R., et al. Expansion of bacteriophages is linked to aggravated intestinal inflammation and colitis. *Cell Host Microbe*. 2019; 25 (2): 285 – 299.e8.
55. Zhang L., Hou X., Sun L., et al. *Staphylococcus aureus* bacteriophage suppresses LPS-induced inflammation in MAC-T bovine mammary epithelial cells. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1614.
56. Merabishvili M., Pirnay J.P., De Vos D. In Bacteriophage therapy: From Lab to Clinical Practice (eds Azeredo J., Sillankorva S.). Springer, 2018: 99 – 110.
57. Friman V.P., Soanes-Brown D., Sierocinski P., et al. Pre-adapting parasitic phages to a pathogen leads to increased pathogen clearance and lowered resistance evolution with *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis bacterial isolates. *J. Evolut. Biol.* 2016; 29 (1): 188 – 198.
58. Dunne M., Rupf B., Tala M., et al. Reprogramming bacteriophage host range through structure-guided design of chimeric receptor binding proteins. *Cell Rep.* 2019; 29 (5): 1336 – 1350.
59. Capparelli R., Parlato M., Borriello G., et al. Experimental phage therapy against *Staphylococcus aureus* in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51 (8): 2765 – 2773.
60. Fauconnier A. In Bacteriophage therapy: From Lab to Clinical Practice (eds Azeredo, J. & Sillankorva, S.). Springer, 2018: 253 – 268.

Авторский коллектив:

Гончар Наталья Васильевна — и.о. руководителя научно-исследовательского отдела кишечных инфекций, ведущий научный сотрудник Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; профессор кафедры педиатрии и неонатологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, д.м.н.; тел.: +7-921- 369-32-97, e-mail: nvgonchar@yandex.ru

Ермоленко Константин Дмитриевич — научный сотрудник научно-исследовательского отдела кишечных инфекций Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; тел.: +7-952-371-28-80, e-mail: ermolenko.kd@yandex.ru

Скрипченко Наталья Викторовна — заместитель директора по научной работе Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; заведующая кафедрой инфекционных болезней у детей ФПК и ПП Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета; д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ; тел.: 8(812) 234-38-22, e-mail: snv@niidi.ru