

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>
<https://elibrary.ru/OMIFCY>

Оригинальная article
Available online at <https://fptt.ru/en>

Значение бактериофагов в управлении рисками безопасности ферментированных видов молочной продукции



В. И. Ганина^{1,2,*}, М. А. Гришина², М. В. Колесник³,
А. К. Самолыго³, И. Н. Мозговая^{2,4}, И. И. Ионов⁵

¹ Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет), Москва, Россия

² ООО «Угличская биофабрика», Углич, Россия

³ Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

⁴ ООО «Биосистема», Москва, Россия

⁵ Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 15.06.2025

Принята после рецензирования: 29.08.2025

Принята к публикации: 02.09.2025

*В. И. Ганина: vigan5428@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-3119-7016>

М. В. Колесник: <https://orcid.org/0000-0002-7997-657X>

И. И. Ионов: <https://orcid.org/0000-0002-3118-3554>

© В. И. Ганина, М. А. Гришина, М. В. Колесник, А. К. Самолыго,
И. Н. Мозговая, И. И. Ионов, 2025



Аннотация.

Микробиологические показатели продукции на молочных предприятиях – одни из важнейших факторов, влияющие на возможные риски безопасности производства. Бактериофаги, лизирующие заквасочную микрофлору, могут инициировать возникновение рисков нарушения процессов ферментации при получении молочной продукции. Цель исследования – изучить факторы, оказывающие влияние на развитие фаговой ситуации при производстве ферментированных видов молочной продукции в разные сезоны года; вновь выделенные бактериофаги и системы защиты от них у изученных штаммов лактококков.

Объекты исследования – молоко, сливки и обезжиренное молоко сырые; сухое цельное и обезжиренное молоко; творожная и подсырная сыворотки; штаммы лактококков разных видов из биобанка ООО «Угличская биофабрика» с разным индексом фагоустойчивости, депонированные в Биоресурсном центре «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов»; два вновь выделенных бактериофага ph. 1622 и ph. 1623. Применяли стандартные микробиологические, генетические и математические методы анализа. Количество мезофильных аэробных и анаэробных микроорганизмов определяли методом посева на плотную питательную среду (ГОСТ 32904-2014); титр бактериофагов – двухслойным методом посевов; геномную ДНК бактериофагов выделяли фенол-хлороформной экстракцией с последующим осаждением изопропанолом, а ее целостность определяли электрофоретическим разделением в агарозном геле.

Получены данные об изменении количества фаговых частиц в сырье, изменчивости по отношению к фагам мезофильных лактококков по сезонам года, а также о генетике вновь выделенных бактериофагов из промышленных образцов. Наибольшее количество фаговых частиц выявили в молочном сырье летнего периода, а наименьшее – зимнего. Количество фаговых частиц коррелировало с бактериальной обсемененностью образцов. Индекс фагоустойчивости у *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris* и *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* менялся по сезонам, наибольшая изменчивость зафиксирована у *L. lactis* subsp. *lactis* – кислотообразователя заквасок. Для создания панелей фагоальтернативных штаммов у фагов ph. 1622 и ph. 1623, выделенных из промышленных образцов, изучены ДНК и аминокислотные последовательности белков фагов.

Результаты исследования показывают сезонную изменчивость изученных культур молочнокислых бактерий и активности бактериофагов, влияющих на качество и безопасность молочной продукции. ДНК фагов ph. 1622 и ph. 1623 отличаются друг от друга по паттерну рестрикции, следовательно, это разные фаги. Сравнение их геномов выявило сходство с ранее изученным и известным бактериофагом c2, поражающим *L. lactis*. Новые бактериофаги могут проявлять разные системы поражения клеток лактококков. Вставка в геноме фага ph. 1623 кодирует орфанную ДНК-метилтрансферазу, потенциально подавляющую иммунные системы бактерий. Однако необходимы дальнейшие исследования по определению профилей фагочувствительности штаммов лактококков и их защитных систем.

Ключевые слов. Бактериофаги, безопасность, кисломолочные продукты, сыры, лактококки, закваски

Финансирование. Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда (№ 24-14-00181).

Для цитирования: Ганина В. И., Гришина М. А., Колесник М. В., Самолыго А. К., Мозговая И. Н. и др. Значение бактериофагов в управлении рисками безопасности ферментированных видов молочной продукции. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 648–658. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>

Bacteriophages in Food Safety: Fermented Dairy Products



Vera I. Ganina^{1,2,*}, Maria A. Grishina², Matvey V. Kolesnik³,
Aleksei K. Samolygo³, Irina N. Mozgovaya^{2,4}, Inna I. Ionova⁵

¹ Moscow State University of Technologies and Management (First Cossack University), Moscow, Russia

² Uglich Biofabrika Ltd, Uglich, Russia

³ Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴ Biosistema Ltd, Moscow, Russia

⁵ Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

Received: 15.05.2025

Revised: 29.08.2025

Accepted: 02.09.2025

*Vera I. Ganina: vigan5428@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-3119-7016>

Matvey V. Kolesnik: <https://orcid.org/0000-0002-7997-657X>

Inna I. Ionova: <https://orcid.org/0000-0002-3118-3554>

© V.I. Ganina, M.A. Grishina, M.V. Kolesnik, A.K. Samolygo,
I.N. Mozgovaya, I.I. Ionova, 2025



Abstract.

Microbiological indicators make it possible to reveal potential safety risks in the dairy industry. Bacteriophages affect the lysis of starter cultures because they can disrupt fermentation processes in dairy production. This study featured the seasonal factors that affect the phage status during dairy fermentation, the newly isolated bacteriophages, and the defense systems used by lactococci strains.

The research featured raw milk, cream, and skim milk; whole and skim milk powders; curd and cheese whey; strains of lactococci from different species with different phage resistance (Uglich Biofabrika Ltd; Bioresource Center of All-Russian Collection of Industrial Microorganisms); two new bacteriophages ph. 1622 and ph. 1623. The research relied on a number of standard microbiological, genetic, and mathematical methods. The mesophilic aerobic and anaerobic microbial count was performed by inoculation on a dense nutrient medium (State Standard GOST 32904-2014) while the two-layer inoculation method revealed the bacteriophage titer. The genomic DNA analysis involved a phenol–chloroform extraction followed by precipitation with isopropanol and electrophoretic separation in agarose gel.

The experiments yielded reliable data on the quantitative change of phage particles in the raw material, the seasonal variability of mesophilic lactococci phages, and the genetics of the new industrial bacteriophages. The highest count of phage particles belonged to the samples obtained in the summer whereas the lowest was associated with the winter samples. The count of phage particles correlated with the bacterial contamination of the samples. The phage resistance index in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, and *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* had a seasonal character, the highest variability being recorded in *L. lactis* subsp. *lactis*, i.e., an acid former of starters. The DNA and amino acid sequences of phage proteins in phages ph. 1622 and ph. 1623 isolated from industrial samples made it possible to create panels of phage alternative strains.

The seasonal variability in lactic acid bacteria cultures and bacteriophage activity may affect the quality and safety of dairy products. The DNA of ph. 1622 and ph. 1623 differed in restriction patterns, which means they were distinct phages. Comparative genomics revealed their similarity to the well-known *L. lactis*-infecting c2 phage. The new phages exhibited different lactococcal cell infection mechanisms. The ph. 1623 genome insertion encoded an orphan DNA methyltransferase that could potentially suppress bacterial immune systems. Further research may reveal lactococcal phage sensitivity and defense mechanisms.

Keywords. Bacteriophage, safety, fermented dairy products, cheese, lactococci, starters

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation, grant no. 24-14-00181.

For citation: Ganina VI, Grishina MA, Kolesnik MV, Samolygo AK, Mozgovaya IN, *et al.* Bacteriophages in Food Safety: Fermented Dairy Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):648–658. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>

Введение

Распоряжение Правительства Российской Федерации № 1364-Р от 29.06.2016 направлено на своевременное устранение рисков, способных приводить к возникновению пищевых инфекций, а также к ухудшению

показателей качества и безопасности выпускаемой продукции [1]. Производство ферментированных видов молочной продукции занимает порядка 50 % от всех вырабатываемых и реализуемых молочных продуктов на российском рынке [2]. Система менеджмента

безопасности предусматривает внедрение комплексных подходов в управление рисками, связанными с минимизацией опасных микробиологических факторов на предприятии, например, фаголизис заквасочной микрофлоры [3, 4]. Проблема фаголизиса обусловлена несколькими факторами, к основным из которых относят: наличие фагов в исходном молочном сырье; устойчивость фаговых частиц к тепловой обработке сырья; взаимосвязь между количеством фаговых частиц и бактериальной обсемененностью молочного сырья; изменения фагов и фагоустойчивости лактококков; фагоустойчивость применяемых заквасок; применение схемы ротации фагоальтернативных заквасок и соблюдения санитарно-гигиенических условий, мойки и дезинфекции оборудования и др.

Поражение заквасочной микрофлоры бактериофагами достаточно давно изучается учеными как в нашей стране, так и за рубежом. Это дает понимание о том, что существуют разные причины ее возникновения, которые до настоящего времени в полной мере еще не изучены [5–8].

Результаты исследований по определению количества фаговых частиц в типовых контрольных критических точках по ходу технологии ферментированных видов молочной продукции позволили заключить, что их значение зависит от нескольких причин. Для снижения возможности возникновения фаговых атак на полезную микрофлору заквасок, которые применяются при производстве кисломолочной продукции и сыров, необходимо знать эти причины, чтобы своевременно разрабатывать и реализовывать корректирующие мероприятия, влияющие на развитие бактериофагов на молочном предприятии.

Следует учитывать также изменение бактериофагов, циркулирующих на предприятиях, и проводить изучение типов бактериальных иммунных систем, защищающих клетки бактерий от бактериофагов. В ряде научных работ показаны пути для предсказания бактериальных иммунных систем в бактериальных геномах [9]. Исследование геномных последовательностей бактериофагов, заражающих лактобактерии, и геномных последовательностей штаммов с известными фаготипами позволит определить детерминанты устойчивости клеток к бактериофагам (в том числе иммунные системы, защищающие против определенных фагов) и анти-защитные компоненты бактериофагов, позволяющие им подавлять системы бактериального иммунитета. В совокупности это предоставит возможность рационального дизайна заквасок, содержащих лактобактерии с максимально широким спектром устойчивости к фагам.

Цель исследования – изучить факторы, влияющие на развитие фаговой ситуации при производстве ферментированных видов молочной продукции в течение разных сезонов года; вновь выделенные бактериофаги и системы защиты от них у изученных штаммов лактококков.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – сырое молоко, сливки и обезжиренное молоко; сухое цельное и обезжиренное молоко; творожная и подсырная сыворотки; штаммы лактококков разных видов из биобанка ООО «Угличская биофабрика» с разным индексом фагоустойчивости, в т. ч. очень фагочувствительные, депонированные в Биоресурсном центре «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» (БРЦ ВКПМ) и зарегистрированные под номерами В-5596, В-5597, В-1574, В-1580, В-1581, В-2025; В-9469. Объектом также являлись два вновь выделенных бактериофага ph. 1622 и ph. 1623 из творожной молочной сыворотки (творог вырабатывали кислотным способом с применением закваски, состоящей из мезофильных лактококков).

При проведении исследования применяли стандартные микробиологические методы в соответствии с ГОСТ 32904-2014, а также двухслойный метод по определению количества фаговых частиц (титр бактериофагов) на агаризованных питательных средах: М17 и гидролизованном молоке (при разбавлении его водой в соотношении 1:1). При выявлении бактериофагов применяли культуры лактококков с низким индексом фагоустойчивости (менее 50 % к коллекционным фагам). Отбор проб и их подготовку к микробиологическим исследованиям проводили по ГОСТ 26809.1-2014. При генетических исследованиях культуры штаммов *Lactococcus lactis* выращивали в среде М17, содержащей 1 % агара, при температуре +30 °С. Для получения препаратов геномной ДНК штаммов *L. lactis* 2 см³ жидкой среды М17 инокулировали отдельными колониями и инкубировали в течение 12 ч при +30 °С; препараты геномной ДНК выделены из полученных жидких культур с помощью набора для выделения геномной ДНК GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя для грам-положительных бактерий. Для получения отдельных бляшек 100 мкл жидкой культуры *L. lactis* и 10 мкл последовательных разведений препаратов бактериофагов добавлялись в 10 см³ расплавленной полужидкой среды М17, содержащей 0,5 % агара и 10 мМ хлорида кальция; смесь выливали на чашку с застывшей твердой агаризованной средой М17 (1 % агара); после окончательного застывания чашки инкубировались в течение 12 ч при +30 °С. Для получения лизатов бактериофагов культуры *L. lactis* разбавляли жидкой средой М17 с добавлением 10 мМ хлорида кальция в соотношении 1:100 и инкубировали при +30 °С до достижения оптической плотности 0,15–0,20 (длина волны 600 нм); в 10 см³ полученной жидкой культуры переносились отдельные фаговые бляшки, далее культуры инкубировались при +30 °С до достижения полного лизиса. Для определения титров полученных фаговых лизатов 10 мкл последовательных разведений наносились на поверхность полужидкой агаризованной среды М17 (0,5 % агара, 10 мМ хлорида кальция);

чашки инкубировали при +30 °С в течение 12 ч, далее производился подсчет образованных бляшек. Для выделения препаратов геномной ДНК бактериофагов 0,5 см³ фагового лизата с титром > 10⁸ БОЕ/см³ инкубировали с 10 мкл РНКазы А (10 мг/см³, Биолабмикс, Россия) и термолабильной ДНКазой (Биолабмикс) при +30 °С в течение часа. Затем добавлялся буфер для лизиса (Трис, pH 8,0 до 10 mM, ЭДТА, pH 8,0 до 1 mM, додецилсульфат натрия до 0,5 %) и 10 мкл протеиназы К (Биолабмикс); смесь инкубировали при +56 °С в течение часа. К смеси добавляли 0,5 см³ фенола, насыщенного буфером (Трис; pH 8,0; 10 mM; ЭДТА; pH 8,0; 1 mM), смесь инкубировали при +60 °С в течение часа с периодическим перемешиванием. Водную фазу отделяли центрифугированием. Для осаждения ДНК к водной фазе добавляли 1/10 объема 3M раствора ацетата натрия (pH 5,2) и 3 объема изопропилового спирта; осадок ДНК отделяли центрифугированием при +4 °С. Библиотеки для высокопроизводительного секвенирования приготовлены с использованием набора MGIEasy FS PCR-Free DNA Library Prep Set (MGI Tech, Китай) в соответствии с инструкциями производителя. Секвенирование парными прочтениями (150 + 150) выполняли на платформе MGI DNBSEQ-G400.

Качество полученных прочтений анализировалось fastqc, тримминг адаптеров / фильтрация по качеству с применением программы fastp [10]. Для сборки геномных последовательностей *de novo* использовали пайплайн shovill. Для аннотации бактериальных геномов – инструмент prokka [11], для предсказания защитных систем у бактерий – базу данных веб-сервиса PADLOC [9]. Для аннотации фаговых геномов – инструмент pharokka [12]. Аминокислотные последовательности предсказанных рамок считывания выравнивали с использованием программы blastp, для визуализации – пакет ruGenomeViz. В ходе проведенных

исследований были собраны полные фаговые геномы, содержащие прямые концевые повторы.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным критерием Тьюки ($p < 0,05$) для сравнения средних значений в выборках и оценки значимости различий. Результаты представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартного отклонения ($M \pm m$).

Достоверность результатов исследований подтверждена 3–5-кратной повторностью проведения экспериментов с последующей статистической обработкой массива данных с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и теста Тьюки в среде анализа данных RStudio.

Результаты и их обсуждение

Информация о действии бактериофагов по сезонам года, поступающая от молочных предприятий, различается: одни отмечают наиболее активное действие бактериофагов в зимний и весенний периоды года, другие – в течение всех сезонов года. В этой связи на первом этапе работы определяли количество бактериофагов и бактериальную обсемененность молочного сырья по сезонам года. Отбор сырья проводили прежде всего на предприятиях с более активным проявлением бактериофагии. Критерием для выбора предприятий, на которых осуществлялся отбор образцов, была ситуация фаголизиса (с торможением или с полной остановкой процесса ферментации) в разные сезоны года. Большая доля исследованных проб (75 %) приходилась на образцы сырого молочного сырья и 25 % – на пробы сухого цельного и обезжиренного молока, полученных на отечественных предприятиях. Результаты исследований представлены на рисунке 1.

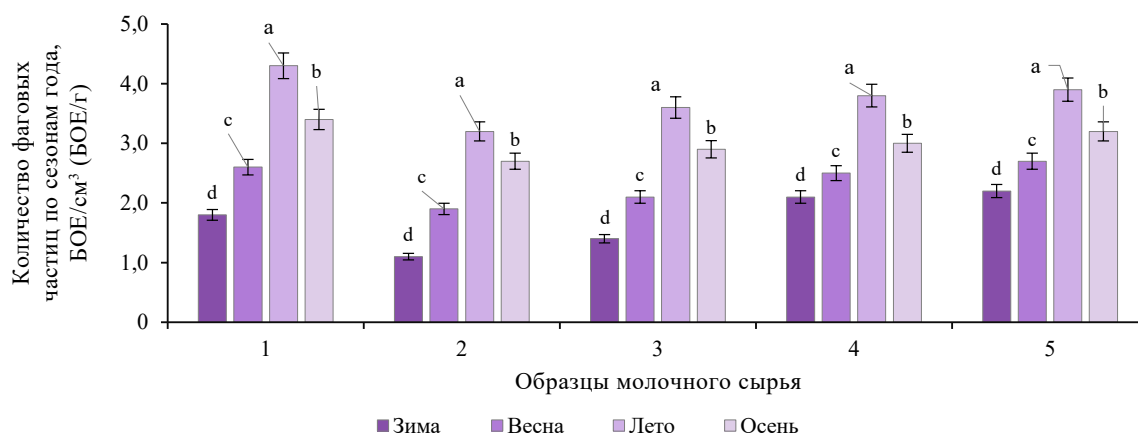


Рисунок 1. Изменение количества фаговых частиц в молочном сырье по сезонам года: 1 – сырое молоко; 2 – сырые сливки; 3 – сырое обезжиренное молоко; 4 – сухое обезжиренное молоко; 5 – сухое цельное молоко (разные буквы указывают на статистически значимые различия, ANOVA с апостериорным критерием Тьюки, $p < 0,05$)

Figure 1. Seasonal phage particle counts across dairy samples: 1 – raw milk; 2 – raw cream; 3 – raw skim milk; 4 – skim milk powder; 5 – whole milk powder. Different letters indicate statistically significant differences (ANOVA + Tukey's post hoc test, $p < 0.05$)

Количество фаговых частиц (титр бактериофагов), выражаемое в бляшкообразующих единицах (БОЕ) в 1 см³ жидкого сырья или 1 г сухого цельного и обезжиренного молока, заметно отличалось не только по видам сырья, но и по сезонам года. В сыром молоке количество фаговых частиц изменялось в зависимости от сезона: зимой в среднем составляло $1,8 \pm 0,2$ лг БОЕ/см³; летом – $3,6 \pm 0,4$ лг БОЕ/см³; осенью – $2,2 \pm 0,1$ лг БОЕ/см³; весной – $2,9 \pm 0,3$ лг БОЕ/см³. Такая же тенденция отмечалась в сырых сливках, в сыром и сухом обезжиренном молоке. По-видимому, это связано с изменением состава молочного сырья, который летом наиболее полноценный. Осенью и весной состав изменяется в течение перехода кормления коров преимущественно от зеленых к сухим кормам. Количество проб молока, получаемого от крупного рогатого скота, содержащегося стойловым способом, составляло не более 10 %. Наиболее полноценный состав молока отмечается в летний период (при условии свободного содержания животных). Именно в молочном сырье летнего периода наблюдали более интенсивное развитие различных групп микроорганизмов, включая дикие расы молочнокислых бактерий, и выявляли большее количество бактериофагов, лизирующих лактококки.

Бактериофаги – это паразиты, которые развиваются в клетках-хозяевах микроорганизмов. Рябцева и соавторы считают, что там, где присутствуют молочнокислые бактерии, развиваются и гомологичные к ним бактериофаги [13]. Бактериальная обсемененность молочного сырья является одним из важнейших показателей безопасности, который регламентируется в ТР ТС 033/2013, а также в ГОСТах на молочное сырье. Именно поэтому бактериальную обсемененность молочного сырья по сезонам года определяли в тех же пробах, в которых контролировали количество

бактериофагов. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 2.

Проведенный статистический анализ полученных результатов подтвердил гипотезу о сезонной динамике фагоустойчивости штаммов молочнокислых бактерий, применяемых в составе заквасок. Результаты подчеркивают необходимость учета сезонности при разработке фагопрофилактических схем.

Также выявлено, что в летний период наблюдается увеличение бактериальной обсемененности в исследованных пробах молочного сырья. Сравнивая и анализируя изменение количества фаговых частиц и общего микробного числа в исследуемых пробах молочного сырья, можно заключить, что с увеличением бактериальной обсемененности возрастает и количество выявленных фаговых частиц. В этой связи такие технологические приемы, как бактофугирование и очистка, снижают не только бактериальную обсемененность, но и количество фаговых частиц в исходном молочном сырье.

Следующей критической контрольной точкой, т. е. возможным риском, является тепловая обработка молочного сырья. Ранее проводили исследования по изучению влияния режимов тепловой обработки, применяемых в технологии молочной продукции, на количество фаговых частиц, содержащихся в молочном сырье [14]. В исследовании сообщается о применении следующих режимов тепловой обработки: 63–65 °С в течение 30 мин (режим термизации); 70–72 °С, 20 с и 78–80 °С, 20 с (режимы низкотемпературной пастеризации); 85–87 °С, 20 мин и 94–96 °С, 7 мин (режимы высокотемпературной пастеризации); 95–97 °С, 3 ч (режим, применяемый при томлении молока).

Количество фаговых частиц снижалось по мере увеличения температуры и продолжительности обра-

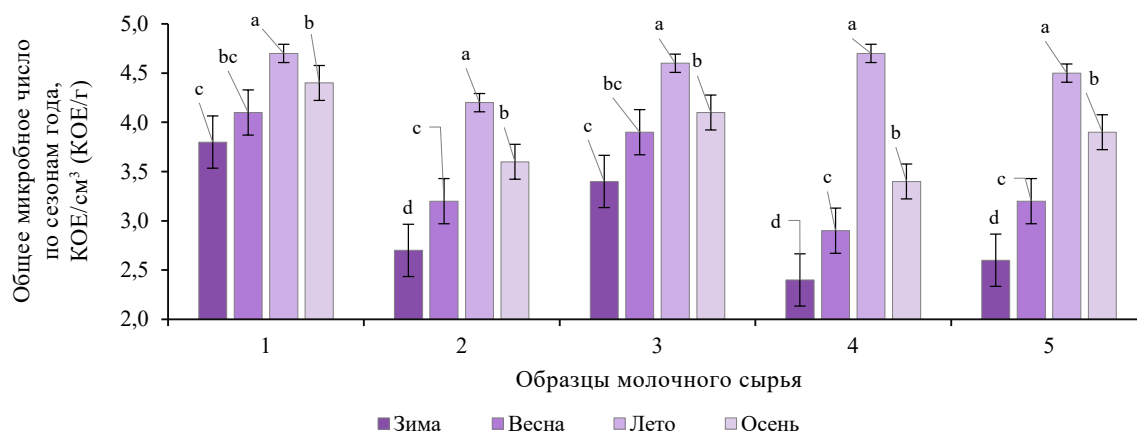


Рисунок 2. Общее микробное количество в молочном сырье по сезонам года: 1 – сырое молоко; 2 – сырые сливки; 3 – сырое обезжиренное молоко; 4 – сухое обезжиренное молоко; 5 – сухое цельное молоко (разные буквы указывают на статистически значимые различия, ANOVA с апостериорным критерием Тьюки, $p < 0,05$)

Figure 2. Seasonal total microbial counts across dairy samples: 1 – raw milk; 2 – raw cream; 3 – raw skim milk; 4 – skim milk powder; 5 – whole milk powder. Different letters indicate statistically significant differences (ANOVA + Tukey's post hoc test, $p < 0.05$)

ботки изученных образцов молочного сырья, содержащего бактериофаги. Выявлены отличия в термоустойчивости изученных коллекционных фагов, способных лизировать молочнокислые бактерии разных таксономических групп. Наибольшую термоустойчивость проявляли фаги, лизирующие термофильные молочнокислые стрептококки, наименьшую – фаги, лизирующие молочнокислые бактерии рода *Lactococcus* ssp., а фаги, лизирующие термофильные молочнокислые палочки, занимали промежуточное место. Одновременно отмечали небольшую разницу по термоустойчивости между фагами, лизирующими один род молочнокислых бактерий. В работе отмечается снижение количества фаговых частиц в образцах молочного сырья после тепловой обработки, однако при типовых промышленных режимах пастеризации в сырье сохраняется от сотен до тысяч фаговых частиц. Эти данные согласуются с результатами, представленными в других научных источниках [15]. Режим, который используется при томлении молочного сырья в технологии ряженки, не обеспечивал полную гибель изученных коллекционных бактериофагов. Так, результаты свидетельствуют о сохранении остаточного количества бактериофагов в молочном сырье после его тепловой обработки. Это позволило заключить, что дальнейшие процессы производства ферментированных видов молочной продукции протекают в условиях фаговой инфекции и могут создавать риски в получении качественной и безопасной продукции.

Дальнейшая направленность процессов сквашивания в технологии кисломолочной продукции, а также при получении, обработке сгустка и созревании сыров во многом определяется фагоустойчивостью применяемых заквасок [16]. Для многих групп молочной продукции используют мезофильные виды молочнокислых бактерий, а именно *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. В этой связи интересно изучить изменение индекса фагоустойчивости по сезонам разных видов мезофильных лактококков. В таблице 1 приведены данные по изменению индекса фагоустойчивости штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* по сезонам года.

У изученных штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* наблюдались существенные изменения в индексе фагоустойчивости. Весна является наиболее неблагоприятным сезоном для них, когда количество фагочувствительных культур увеличивается до 85,6 %, а фагоустойчивых – уменьшается до 14,4 %.

Результаты изучения индекса фагоустойчивости у штаммов ароматообразующих бактерий по сезонам года приведены в таблице 2.

Наименьшую фагоустойчивость штаммы ароматообразующих молочнокислых бактерий имели в зимне-весенний период, возможно потому, что в этот период в молочном сырье содержится меньшее количество лимоннокислых солей, способствующих их развитию.

В таблице 3 представлены результаты изучения изменения индекса фагоустойчивости штаммов *L. lactis* subsp. *cremoris* по сезонам года.

L. lactis subsp. *cremoris* проявил наибольшую устойчивость к действию бактериофагов по сравнению с другими мезофильными молочнокислыми бактериями. Штаммы *L. lactis* subsp. *cremoris* показали наименьшую устойчивость к фагам в весенний период года. Тем не менее, изученные штаммы по данному свойству значительно отличались друг от друга.

Результаты проведенных исследований указывают на изменения свойств культур лактококков по сезонам. Это обуславливает необходимость проведения

Таблица 1. Изменение индекса фагоустойчивости штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* по сезонам года

Table 1. Seasonal phage resistance in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

Время года	Количество культур, имеющих индекс фагоустойчивости, % ($p \leq 0,05$)			
	90–98	0–10	11–50	51–89
Лето	22,80 ± 1,13	48,70 ± 2,32	17,10 ± 0,89	11,40 ± 0,54
Осень	20,00 ± 0,09	42,80 ± 2,26	22,80 ± 0,92	14,40 ± 0,05
Зима	17,10 ± 0,07	31,05 ± 1,61	25,70 ± 1,28	25,70 ± 1,25
Весна	14,40 ± 0,04	40,00 ± 1,85	28,50 ± 1,43	17,10 ± 0,08

Таблица 2. Изменение индекса фагоустойчивости штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* по сезонам года

Table 2. Seasonal phage resistance in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*

Время года	Количество штаммов, имеющих индекс фагоустойчивости, % ($p \leq 0,05$)			
	90–98	0–10	11–50	51–89
Лето	25,00 ± 1,26	33,30 ± 1,65	25,00 ± 1,25	16,70 ± 1,26
Осень	16,70 ± 0,08	50,00 ± 2,60	25,00 ± 1,26	8,30 ± 0,02
Зима	8,30 ± 0,03	58,30 ± 2,65	33,40 ± 1,64	0
Весна	8,30 ± 0,04	41,20 ± 2,40	50,00 ± 2,48	0

Таблица 3. Изменение индекса фагоустойчивости штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* по сезонам годаTable 3. Seasonal phage resistance in *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*

Время года	Количество штаммов, имеющих индекс фагоустойчивости, % ($p \leq 0,05$)			
	90–98	0–10	11–50	51–89
Лето	$28,60 \pm 1,36$	$19,00 \pm 0,08$	$28,60 \pm 1,40$	$23,80 \pm 1,26$
Осень	$23,80 \pm 1,28$	$28,60 \pm 1,20$	$28,60 \pm 1,38$	$19,00 \pm 1,10$
Зима	$19,00 \pm 1,10$	$33,40 \pm 1,63$	$28,60 \pm 1,35$	$19,00 \pm 1,10$
Весна	$14,30 \pm 0,05$	$38,00 \pm 1,85$	$33,40 \pm 1,64$	$14,30 \pm 0,06$

дальнейших более глубоких исследований по установлению причин изменчивости свойств у мезофильных молочнокислых бактерий и бактериофагов, приводящих к лизису штаммов, а также повышения фагоустойчивости заквасок путем включения в их состав фагоальтернативных штаммов лактококков, имеющих разные системы защиты от действия бактериофагов.

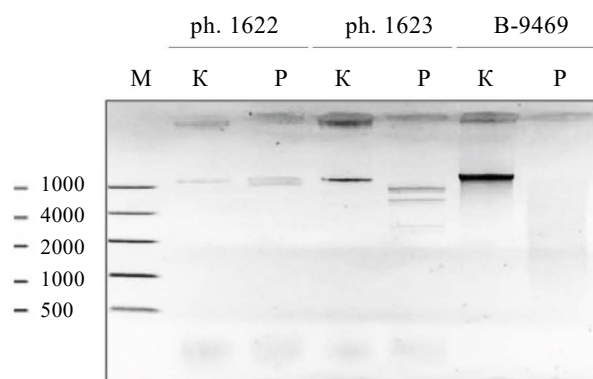
Для профилактики активного развития бактериофагов при получении кисломолочной продукции и сыров производители заквасок стремятся включать в их состав штаммы микроорганизмов не только разных родов (например, мезофильные лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки), но и фагоальтернативные. Однако, как показывают результаты отечественных и зарубежных исследований, бактериофаги обладают высокой вариабельностью, адаптируются к новым условиям и начинают лизировать даже те штаммы заквасок, которые ранее имели высокий индекс фагоустойчивости. Таким образом, бактериофаги постоянно эволюционируют для того, чтобы преодолеть механизмы иммунитета устойчивых к фагам штаммов [17–19].

Данные указывают на необходимость при создании заквасок не только использовать имеющуюся коллекцию фагов, циркулирующих на молочных предприятиях, но и пополнять ее бактериофагами, постоянно выявляемыми на конкретном предприятии и при выработке определенного вида продукции. В исследовании Ганиной, посвященном определению критического количества бактериофагов, приводящего к выработке некачественной молочной продукции, утверждается, что титр бактериофагов может достигать сотни тысяч и миллионы бляшкообразующих единиц в 1 см^3 [20]. Эта информация также подтверждает высокую способность бактериофагов к изменению свойств, приспособлению к новым условиям и усилению фаголиза заквасочной микрофлоры.

Опираясь на вышеизложенное, можно убедиться в необходимости регулярного мониторинга бактериофагов на предприятиях, выделения бактериофагов, сравнения их с ранее выделенными, пополнения коллекции с целью отбора штаммов с высоким индексом фагоустойчивости и создания фагоальтернативных заквасок. В связи с этим нами проведены исследования по изучению двух бактериофагов, выделенных в последнее время из образцов молочной сыворотки,

полученной в технологии творога, вырабатываемого кислотным способом с применением мезофильной закваски. При производстве творога на данном предприятии наблюдали замедление процесса сквашивания. Выявление бактериофагов из образцов молочной творожной сыворотки осуществляли на питательной среде М17 с использованием линейки штаммов лактококков, шесть из которых депонированы в Биоресурсном центре «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» (БРЦ ВКПМ) как фагочувствительные культуры *L. lactis* subsp. *lactis*. Культура, проявляющая наибольшую чувствительность к коллекционным бактериофагам, была депонирована в БРЦ ВКПМ под номером В-9469. В ходе проведенной работы выделили несколько бактериофагов. У фагов ph. 1622 и ph. 1623, наиболее активных в отношении изученных штаммов, выделили ДНК и провели ее рестрикционный анализ (рис. 3).

Геномную ДНК штамма В-9469 использовали в качестве контроля чистоты фаговой ДНК. ДНК фагов ph. 1622 и ph. 1623 характеризуются разным паттерном рестрикции, что говорит о принадлежности к разным видам бактериофагов. В дальнейшем различие



М – маркер FastRuler High-Range DNA ladder;
К – контроль – ДНК без добавления рестриктаз;
Р – рестрикционная смесь – ДНК, обработанная смесью рестриктаз (EcoRI, Eco32I, HindIII, SalI в FD Green buffer, по 0,5 мкл каждой, 20 мин 37 °C)

Рисунок 3. Результаты рестрикционного анализа ДНК фагов ph. 1622 и ph. 1623

Figure 3. DNA restriction analysis: phages ph. 1622 and ph. 1623

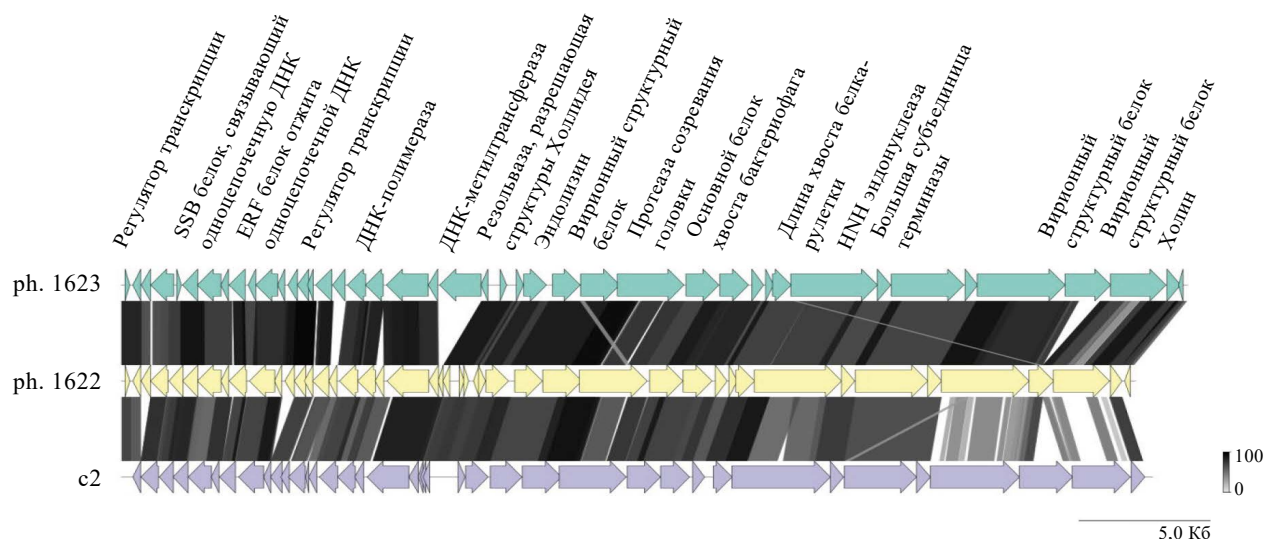


Рисунок 4. Выравнивание геномов бактериофагов ph. 1623, ph. 1622 и c2

Figure 4. Genome alignment: phages ph. 1623, ph. 1622, and c2

между этими бактериофагами было подтверждено высокопроизводительным секвенированием препаратов геномных ДНК, сборкой и выравниванием аминокислотных последовательностей предсказанных открытых рамок считывания. Качество прочтений анализировалось fastqc, тримминг адаптеров / фильтрация по качеству – программой fastp [10]. Для сборки геномных последовательностей *de novo* использовали пайплайн shovill. Для аннотации бактериальных геномов использовали метод, изложенный в работе [11], для предсказания защитных систем у бактерий – базу данных веб-сервиса PADLOC [9]. Для аннотации фаговых геномов использовали метод, изложенный в статье [12], для визуализации – пакет ruGenomeViz. В ходе проведенных исследований были собраны полные фаговые геномы, содержащие прямые концевые повторы. Для последующих работ по созданию панелей фагоальтернативных штаммов нуклеотидные последовательности фагов ph. 1622 и ph. 1623, выделенных из промышленных образцов, определили методами высокопроизводительного секвенирования. В ходе анализа геномных последовательностей бактериофагов ph. 1622 и ph. 1623 предсказаны локусы, которые потенциально могут определять специфичность бактериофагов к различным штаммам *L. lactis*.

Геномы бактериофагов ph. 1622 и ph. 1623 похожи друг на друга (сходство нуклеотидных последовательностей геномов > 90 %). Сравнение геномов бактериофагов ph. 1622 и ph. 1623 выявило сходство с ранее изученным бактериофагом c2, заражающим клетки *L. lactis* [21]. Выравнивание аминокислотных последовательностей, кодируемых фагами ph. 1622 и ph. 1623, выявило несколько вставок, кодирующих открытые рамки считывания, которые присутствуют только в одном из фаговых геномов. Ранее демонстрировалось,

Таблица 4. Защитные системы, идентифицированные в геноме штамма *Lactococcus lactis* B-9469

Table 4. Defense systems in *Lactococcus lactis* B-9469

Порядковый номер системы	Название защитной системы
1	RosmerTA
2	PD-T4-6
3	viperin_solo
4	RM_type_I
5	AbiH
6	AbiO-Nhi_family
7	PDC-S04
8	RM_type_I

что такие вставки у фагов могут кодировать компоненты, которые используются для подавления иммунных систем бактерий [22, 23]. Одна из вставок в геноме фага ph. 1623 кодирует орфанную ДНК-метилтрансферазу (рис. 4).

Орфанные метилтрансферазы, кодируемые бактериофагами, позволяют бактериофагам избегать иммунного ответа, опосредованного клеточными системами рестрикции-модификации. Предположительно, бактериофаг ph. 1623 может обладать устойчивостью к воздействию некоторых систем рестрикции-модификации, кодируемых *L. lactis*.

Геном фагочувствительного штамма *L. lactis* B-9469 отсекарован короткими парными прочтениями и собран до уровня контигов. С помощью сервиса PADLOC в геноме *L. lactis* B-9469 идентифицировали локусы, кодирующие бактериальные защитные системы (табл. 4).

В геноме штамма *L. lactis* B-9469 предсказали шесть систем, которые могут защищать клетки от воздей-

ствия бактериофагов. В частности, этот штамм кодирует две системы рестрикции-модификации I типа. Системы рестрикции-модификации позволяют клеткам уничтожать чужеродные молекулы ДНК, не содержащие модифицированные нуклеотиды в контексте определенных коротких последовательностей, при этом такие последовательности могут сильно варьироваться между разными системами рестрикции-модификации. Бактериофаги используют различные механизмы для обхода систем рестрикции-модификации: в их геномах могут отсутствовать сайты, распознаваемые этими системами, фаги способны экспрессировать специальные белки, подавляющие иммунный ответ, опосредуемый системами рестрикции-модификации, либо иметь свои собственные системы модификации ДНК (такие как орфанные метилтрансферазы). Поскольку на текущий момент специфичность систем рестрикции-модификации штамма *L. lactis* B-9469 неизвестна, механизмы устойчивости фагов ph. 1622 и ph. 1623 к этим системам требуют дополнительного изучения. Роль орфанной метилтрансферазы в жизненном цикле фага ph. 1623 неясна. Однако, в связи с тем, что близкородственный фаг ph. 1622, не кодирующий орфанных метилтрансфераз, также способен заражать штамм *L. lactis* B-9469, можно предположить, что орфанная метилтрансфераза фага ph. 1623 необходима для обхода систем рестрикции-модификации, кодируемых другими штаммами *L. lactis*.

Согласно исследованию, RosmerTA представляет собой abortивную систему инфекции, вызывающую деполяризацию клеточной мембраны при фаговой инфекции, однако системы RosmerTA, кодируемые клетками *L. lactis*, не исследовались, в частности, неизвестны триггеры, вызывающие активацию этих систем. Показана защитная функция систем PD-T4-6 для гомологов, кодируемых клетками *Escherichia coli*, однако молекулярные механизмы этих систем и их триггеры на текущий момент неизвестны; активности систем PD-T4-6 в клетках *L. lactis* не исследовались. Защитные локусы *viperin_solo* кодируют ферменты, синтезирующие разнообразные модифицированные нуклеотиды, ингибирующие вирусные транскрипцию и / или репликацию; сведений об активности гомологов этих ферментов, кодируемых *L. lactis*, на текущий момент не имеется. Локусы *AbiN* и *AbiO-Nhi_family* кодируют предсказанные системы abortивной инфекции, но их молекулярные механизмы остаются неисследованными. Локусы *PDC-S04* не были охарактеризованы экспериментально, их ассоциация с известными защитными системами позволяет предположить, что они также способны подавлять инфекцию фагами [9].

В связи с тем, что для большинства защитных систем, предсказанных в штамме *L. lactis* B-9469, неизвестны молекулярные механизмы и фаговые компоненты, активирующие эти системы, предсказать спектр фагочувствительности этого штамма затруднительно. Накопление фаговой коллекции, скрининг коллек-

ции штаммов против фагов, секвенирование и анализ фаговых и клеточных геномов позволит определить детерминанты устойчивости клеток к различным бактериофагам.

Выводы

Комплекс проведенных исследований подтвердил сложность проблемы бактериофагии и необходимость ее учета в управлении рисками при производстве ферментированных видов молочной продукции. К сложным факторам, влияющим на микробиологическую безопасность вырабатываемой продукции, следует относить сезонные изменения количества бактериофагов, содержащихся в молочном сырье. Эти изменения взаимосвязаны с общим микробным числом в сырье, с исходным титром фагов перед началом процессов ферментации, а также с сезонной изменчивостью штаммов, входящих в состав заквасок. Проведенный статистический анализ полученных данных подтвердил гипотезу о сезонной динамике фагоустойчивости штаммов молочнокислых бактерий, применяемых в составе заквасок. Результаты подчеркивают необходимость учета сезонности при разработке фагопрофилактических схем.

Несмотря на включение в состав заквасок фагоальтернативных штаммов, необходимо постоянно осуществлять мониторинг, выделение и изучение изменчивости бактериофагов, способных лизировать молочнокислые бактерии. В фагах ph. 1622 и ph. 1623 имеется несколько вставок, кодирующих открытые рамки считывания, в частности, в геноме фага ph. 1623 определена вставка, кодирующая орфанную ДНК-метилтрансферазу, которая обеспечивает бактериофагам способность избегать иммунный ответ, опосредованного клеточными системами рестрикции-модификации. Результаты подтверждают необходимость проведения дальнейших исследований в данном направлении, чтобы осознанно включать в состав заквасок культуры лактококков с разными системами защиты от действия бактериофагов. Это позволит сделать шаг вперед в отборе отечественных фагоальтернативных культур и их введения в состав заквасок, что будет способствовать снижению рисков выработки некачественных ферментированных видов молочной продукции.

Применение современных подходов по определению детерминант устойчивости у молочнокислых бактерий к бактериофагам планируется применять на строящейся современной Угличской биофабрике (ООО «Угличская биофабрика»), что будет повышать фагоустойчивость работы заквасок в технологии молочной продукции и способствовать ее выработке с требуемыми показателями качества и безопасности.

Критерии авторства

В. И. Ганина – общее руководство проводимыми исследованиями, выявление бактериофагов в молочном сырье, определение титра бактериофагов и общего

микробного числа в сырье по сезонам года, анализ полученных результатов и формулирование выводов, написание рукописи. М. А. Гришина – изучение отношения штаммов молочнокислых бактерий разных видов к коллекционным бактериофагам по сезонам года и анализ полученных данных. М. В. Колесник – подбор литературы по изучаемому вопросу, выделение и рестрикция ДНК бактериофагов, анализ полученных данных и формулирование выводов. А. К. Самолыго – полногеномное секвенирование препаратов геномных ДНК двух чувствительных штаммов лактококков и двух изучаемых фагов, биоинформатический анализ защитных систем, а также анализ полученных данных и формулирование выводов. И. Н. Мозговая – отбор образцов молочного сырья на предприятиях, анализ полученных результатов и формулирование выводов. И. И. ИONOVA – поиск научной литературы по изучаемой проблеме, подготовка питательных сред и образцов к исследованиям, обработка полученных результатов, построение диаграмм, анализ данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы статьи выражают благодарность директору Д. В. Фурсаеву и коллективу ООО «Угличская биофабрика» за предоставленные штаммы молочнокислых бактерий и культуры бактериофагов.

Contribution

V.I. Ganina supervised the studies, detected the bacteriophages, determined their titer and total microbial count, analyzed the results, formulated the conclusions of the studies, and drafted the manuscript of the studies. M.A. Grishina studied the seasonal ratio of lactic acid bacteria strains across species and analyzed the data. M.V. Kolesnik wrote the review, performed the isolation and restriction of bacteriophage DNA, analyzed the data, and formulated the conclusions. A.K. Samolygo was responsible for the whole-genome sequencing of lactococci strains and phages, bioinformatics of defense systems, data analysis, and conclusions. I.N. Mozgovaya selected the samples, analyzed the results, and formulated the conclusions of the studies. I.I. Ionova wrote the review, prepared the nutrient media and samples, processed the results, plotted the diagrams, and also provided the analyses of the data.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to Uglich Biofabrika Ltd and Director D.V. Fursaev for providing the strains of lactic acid bacteria and bacteriophage cultures.

Список литературы / References

1. Ефимочкина Н. Р. Этиология и эпидемиологические аспекты наиболее значимых пищевых инфекций. Молочная промышленность. 2022. № 2. С. 30–33. [Efimochkina NR. Etiology and epidemiological aspects of the most significant foodborne infections. Dairy industry. 2022;(2):30–33. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/ZOQVMG>
2. Горощенко Л. Г. Ценовая конъюнктура на российском рынке молочной продукции в 2024 году: кисломолочные продукты, сметана. Молочная промышленность. 2024. № 5. С. 8–14. [Goroschenko LG. Russian dairy market 2024: Price environment for fermented dairy products and sour cream. Dairy industry. 2024;(5):8–14. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/FUNJVN>
3. Агеева Н. В., Кочетов В. А., Литвиненко Е. Ю. Практические решения по внедрению на предприятиях пищевой промышленности системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2020. № 2–3. С. 104–107. [Ageeva NV, Kochetov VK, Litvinenko EYu. Practical solutions for implementation on enterprises of the food industry of the system food safety management. Izvestiya Vuzov. Food Technology. 2020;(2–3):104–107. (In Russ.)] <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2020.2-3.27>
4. García-Anaya MC, Sepulveda DR, Sáenz-Mendoza AI, Rios-Velasco C, Zamudio-Flores PB, *et al.* Phages as biocontrol agents in dairy products. Trends in Food Science and Technology. 2020;95:10–20. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.10.006>
5. Сорокина Н. П., Кучеренко И. В., Кураева Е. В., Кушнаренко Л. В. Современные проблемы бактериофагии. Молочная промышленность. 2019. № 2. С. 32–34. [Sorokina NP, Kucherenko IV, Kuraeva EV, Kushnarenko LV. Up-to-date problems of the bacteria phages. Dairy industry. 2019;(2):32–34. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YYGBMD>
6. Казак А. Н., Василенко С. Л., Фурик Н. Н. Изучение распространенности бактериофагов в ферментированных молочных продуктах. Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2013. № 8. С. 117–129. [Kazak AN, Vasylenko SL, Furik NN. Investigation of bacteriophage prevalence in fermented milk products. Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials. 2013;(8):117–129. (In Russ.)]
7. Ганина В. И., Машенцева Н. Г., ИONOVA И. И. Исследование бактериофагов, лизирующих молочнокислые бактерии. Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 2. С. 361–374. [Ganina VI, Mashentseva NG, Ionova II. Bacteriophages of lactic acid bacteria. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(2):361–374. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2371>

8. Сорокина Н. П. О проблемах в заквасочном деле России. Молочная промышленность. 2022. № 4. С. 7–10. [Sorokina NP. On the problems in the sourdough business of Russia. Dairy industry. 2022;(4):7–10. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/NLQEOJ>
9. Payne LJ, Meaden S, Mestre MR, Palmer C, Toro N, et al. PADLOC: A web server for the identification of antiviral defence systems in microbial genomes. Nucleic acids research. 2022;50(W1):W541–W550.
10. Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. Bioinformatics. 2018;34(17):i884–i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
11. Seemann T. Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics. 2014;30(14):2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
12. Bouras R, Nepal G, Houtak G, Psaltis AJ, Wormald P-J, et al. Pharokka: A fast scalable bacteriophage annotation tool. Bioinformatics. 2023;39(1):btac776. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac776>
13. Рябцева С. А., Ганина В. И., Панова Н. М. Микробиология молока и молочных продуктов: учебное пособие для вузов. СПб: Лань; 2021. 192 с. [Ryabtseva SA, Ganina VI, Panova NM. Microbiology of milk and dairy products: A textbook for universities. Saint Petersburg: Lan'; 2021. 192 p. (In Russ.)]
14. Pujato SA, Quiberoni AD, Mercanti J. Bacteriophages on dairy foods. Journal of Applied Microbiology. 2019;126(1):14–30. <https://doi.org/10.1111/jam.14062>
15. Ганина В. И. Влияние температуры на выживаемость бактериофагов в биотехнологии кисломолочных продуктов. Молочная промышленность. 2020. № 3. С. 31–32. [Ganina VI. The temperature effect on the survival of bacteriophages in the biotechnology of fermented milk products. Dairy industry. 2020;(3):31–32. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-03-32-33>
16. Герасимович А. Д., Сидоренко А. В. Бактериофаги молочнокислых бактерий и их устойчивость к физико-химическим факторам. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сборник науч. трудов. Минск, 2020. Т. 12. С. 40–58. [Gerasimovich AD, Sidorenko AV. Bacteriophages of lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* and their resistance to physicochemical factors. Microbial biotechnology: Fundamental and applied aspects: Collection of Sci. papers. Minsk, 2020;12:40–58. (In Russ.)]
17. Грязнова М. В., Буракова И. Ю., Смирнова Ю. Д., Нестерова Е. Ю., Родионова Н. С. и др. Динамика изменения бактериального состава молочной основы в процессе ферментации. Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 554–564. [Gryaznova MV, Burakova IYu, Smirnova YuD, Nesterova EYu, Rodionova NS, et al. Bacterial composition of dairy base during fermentation. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):554–564. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2456>
18. Lavelle K, Murphy J, Fitzgerald B, Lugli GA, Zomer A, et al. A decade of *Streptococcus thermophilus* phage evolution in an Irish dairy plant. Applied and Environmental Microbiology. 2018;84(10):e02855. <https://doi.org/10.1128/AEM.02855-17>
19. Лапшевич И. Как так? Бактериофаги – невидимый враг молочных продуктов. Сыроделие и маслоделие. 2021. № 3. С. 16–17. [Lapshevich I. How so? Bacteriophages – The invisible enemy of dairy products. Cheese- and Buttermaking. 2021;(3):16–17. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/CXKKRB>
20. Ганина В. И. Критически опасное количество фагов в биотехнологии кисломолочной продукции. Молочная промышленность. 2022. № 3. С. 13–15. [Ganina VI. Critically dangerous number of phages in the biotechnology of fermented milk products. Dairy industry. 2022;(3):13–15. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-03-13-15>
21. Jarvis AW, Lubbers MW, Waterfield NR, Collins LJ, Polzin KM. Sequencing and analysis of the genome of lactococcal phage c2. International Dairy Journal. 1995;5(8):963–976. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00040-2](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00040-2)
22. Cumby N, Edwards AM, Davidson AR, Maxwell KL. The bacteriophage HK97 gp15 moron element encodes a novel superinfection exclusion protein. Journal of Bacteriology. 2012;194(18):5012–5019. <https://doi.org/10.1128/jb.00843-12>
23. Murphy J, Mahony J, Ainsworth S, Nauta A, van Sinderen D. Bacteriophage orphan DNA methyltransferases: Insights from their bacterial origin, function, and occurrence. Applied and Environmental Microbiology. 2013;79(24):7547–7555. <https://doi.org/10.1128/aem.02229-13>