



УДК 579.61:616-078+575.112
<https://doi.org/10.26516/2073-3372.2023.45.3>

***In silico* анализ разнообразия структур CRISPR-Cas-систем в геномах *Salmonella enterica* и детектируемых ими фаговых видов**

А. Ю. Борисенко¹, Н. А. Арефьева^{1,2,3}, Ю. П. Джиоев¹, С. В. Эрдынеев^{1,3},
Ю. С. Букин^{4,5}, Г. А. Тетерина⁵, А. А. Приставка⁵, Г. В. Юринова⁵,
Д. А. Антипин¹, К. Б. Кахиани¹, А. Э. Макарова¹, В. П. Саловарова⁵,
В. И. Злобин^{1,6*}

¹Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск, Россия

²Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, г. Иркутск, Россия

³Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока,
г. Иркутск, Россия

⁴Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Россия

⁵Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия

⁶Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи,
г. Москва, Россия

E-mail: 89500720225@mail.ru

Аннотация. Представлены результаты выполненной *in silico* с использованием комплекса программных продуктов геномики и биоинформатики работы по оценке разнообразия структур CRISPR/Cas-систем в геномах штаммов *Salmonella enterica* и выявлению детектируемых через спейсеры в CRISPR-касетах видов фагов. Определена видовая устойчивость исследуемых штаммов *S. enterica* к специфичным фагам. Обсуждаются перспективы применённого подхода для эффективной таргетной фаговой терапии сальмонеллёзных инфекций.

Ключевые слова: *Salmonella enterica*, *in silico* анализ, программные методы биоинформатики, CRISPR/Cas-система, спейсеры, повторы, протоспейсеры, фаги.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00520).

Для цитирования: *In silico* анализ разнообразия структур CRISPR-Cas систем в геномах *Salmonella enterica* и детектируемых ими фаговых видов / А. Ю. Борисенко, Н. А. Арефьева, Ю. П. Джиоев, С. В. Эрдынеев, Ю. С. Букин, Г. А. Тетерина, А. А. Приставка, Г. В. Юринова, Д. А. Антипин, К. Б. Кахиани, А. Э. Макарова, В. П. Саловарова, В. И. Злобин // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2023. Т. 45. С. 3–20. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2023.45.3>

In Silico Analysis of the Structural Diversity of CRISPR-Cas Systems in Genomes of *Salmonella enterica* and Phage Species Detected by Them

A. Yu. Borisenko¹, N. A. Arefieva^{1,2,3}, Yu. P. Dzhioev¹, S. V. Erdyneev^{1,3}, Yu. S. Bukin^{4,5}, G. A. Teterina⁴, A. A. Pristavka⁵, G. V. Yurina⁵, D. A. Antipin¹, K. B. Kahiani¹, A. E. Makarova¹, V. P. Salovarova⁵, V. I. Zlobin^{1,6*}

¹Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

²Research Center for Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, Russian Federation

³Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russian Federation

⁴Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

⁵Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

⁶Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The problem of resistance of pathogenic bacteria to antibiotics has become global and, therefore, there is renewed interest in the use of bacteriophages. However, bacteria also have phage defense structures, the CRISPR/Cas system. Therefore, the analysis of the structural diversity of CRISPR-Cas systems in the genomes of pathogenic bacteria and phages is an important fundamental and applied direction. The aim. Investigation of the diversity of structures of CRISPR/Cas systems in the genomes of *S. enterica* strains from the NCBI database using bioinformatics programs and assessment of the possibilities to identify phage protection of strains through spacers in CRISPR cassettes. The studies were carried out with the genomes of 449 *S. enterica* strains from the NCBI database. A number of bioinformatics software methods were used: 1) MacSyFinder, 2) CRISPR Interactive database, 3) CRISPR R Tool, 4) CRISPI: a CRISPR Interactive database, 5) CRISPRFinder. Screening of phages through spacers CRISPR cassettes was used: 1) CRISPRTarget, 2) Mycobacteriophage Database, 3) Phages database. In the genomes of the studied strains of *S. enterica*, one type of CRISPR/Cas system, I-E, was identified. Protein genes were present in each locus of the CRISPR/Cas systems: Cas1_0_I-E_7, Cas2_0_I-E_8, Cas3_0_I_1, Cas5_0_I-E_5, Cas6_0_I-E_6, Cas7_0_I-E_4, Cse1_0_I-E_2, Cse2_0_I-E_3. The number of cassettes was from 1 to 3, and the spacers in them varied from 8 to 30. Repeats in CRISPR cassettes varied from 27 to 29 base pairs. The identified phages belonged to bacteria of the genera: *Salmonella* – 60%, *Escherichia* – 18%, *Enterobacter* – 9%, *Salmonella* – 8%, and *Staphylococcus* and *Enterococcus* were up to 5%. The obtained data on the diversity of CRISPR/Cas systems in the genomes of the studied *S. enterica* strains demonstrate their unique structures. The homogeneity of CRISPR/Cas systems and the rooting of CAS types I-E in genomes can be explained by their participation in the interspecific transmission of these CRISPR systems.

Keywords: *Salmonella enterica*, in silico approaches, genomics and bioinformatics software, CRISPR/Cas system, spacers, repeats, protospacers, phages.

For citation: Borisenko A.Yu., Arefieva N.A., Dzhioev Yu.P., Erdyneev S.V., Bukin Yu.S., Teterina G.A., Pristavka A.A., Yurina G.V., Antipin D.A., Kahiani K.B., Makarova A.E., Salovarova V.P., Zlobin V.I. In Silico Analysis of the Structural Diversity of CRISPR-Cas Systems in Genomes of *Salmonella enterica* and Phage Species Detected by Them. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2023, vol. 45, pp. 3-20. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2023.45.3> (in Russian)

Введение

Представители рода *Salmonella* являются подвижными факультативно-анаэробными грамотрицательными бактериями. В настоящее время известны два генетических вида этого рода: *Salmonella enterica* и *Salmonella bongori*, у которых идентифицированы более 2600 сероваров, в большей мере принад-

лежащих *S. enterica*. Вид *S. enterica* состоит из шести подвидов: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* и *indica*, причём известно, что только первый заражает теплокровных животных [Detection of *Salmonella* spp. ... , 2013; Supplement 2008–2010 ... , 2014; Rapid detection of *Salmonella* ... , 2019]. Серотипы вида подразделяются на брюшнотифозные (*S. enterica* var Typhi и *S. enterica* var Paratyphi A) и небрюшнотифозные (часто называемые серотипами NTS). Небрюшнотифозные NTS-подтипы *S. enterica* в основном (95 %) пищевого происхождения и вызывают кишечную диарею у людей. Согласно глобальной статистике они ежегодно вызывают около 2,8 млрд случаев диарейных заболеваний, а число случаев смерти превышает 300 тыс. [Antimicrobial resistance ... , 2015; Genome-scale metabolic ... , 2018; Worldwide Epidemiology ... , 2019; Knodler, Elfenbein, 2020; Gal-Mor, 2018, с. e00088-18].

Согласно результатам филогенетического анализа *S. bongori* является более древним в эволюционном отношении и отделился от общего предка *Escherichia coli* примерно 100–160 млн лет назад [Molecular phylogeny ... , 2008]. Горизонтальное генетическое приобретение острова патогенности сальмонеллы 1 (SPI-1), который необходим для проникновения в эпителиальные клетки кишечника хозяина и вызывает апоптоз в макрофагах, знаменует собой важный этап видообразования *S. enterica* [Porwollik, McClelland, 2003, p. 977]. Именно более позднее независимое горизонтальное приобретение SPI-2 *S. enterica* после его образования от *S. bongori* произошло 40–63,4 млн лет назад и важно для внутриклеточного выживания и системной фазы инфекции [Gal-Mor, 2018]. Был проведён филогенетический анализ на репрезентативной выборке из 926 геномов *S. enterica* и *S. bongori*, который на полученном древе максимального правдоподобия показал уровни различия между двумя этими видами. Эти результаты четко разграничивают более древний вид *S. bongori*, а также все шесть известных подвидов *S. enterica*. Они также указывают на то, что внутри *S. enterica* формируются ещё как минимум три неопределённых подвида, которые временно назвали новыми подвидами А, В и С, ожидая подтверждения стандартными таксономическими методами [A genomic overview ... , 2018; GrapeTree: Visualization ... , 2017].

Известно, что в последнее время сальмонеллы *S. enterica* приобрели множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) к современным антибиотическим препаратам. Патогенные бактерии с МЛУ представляют собой серьёзную растущую угрозу для общественного здравоохранения во всём мире. Для конкретизации мер борьбы с ними в 2017 г. Всемирная организация здравоохранения опубликовала список из 12 таксонов бактерий, разделённых на три приоритетные группы по уровню потребности в создании новых антибактериальных препаратов: критический, высокий и средний. *Salmonella* входит в группу с высоким приоритетом [Expansion of bacteriophages..., 2019; Oral application ... , 2015]. МЛУ сальмонелл в этой группе определяется как корезистентность к антибиотикам первой линии: ампициллину, хлорамфениколу и триметоприму/сульфаметоксазолу. Сегодня антибиотики третьего поколения: фторхинолон, ципрофлоксацин, цефалоспорины и цефтриаксон – являются рекомендуемыми препаратами для лечения инвазивных сальмонеллёзных инфекций [Infectious Diseases Society ... , 2017].

Основными способами борьбы с патогенами с МЛУ остаются повышение доз и разработка новых поколений антибиотиков, которые, однако, за последние несколько лет создать не удалось [A historical, economic ... , 2023]. В этой связи вновь актуальным становится вопрос о применении против патогенных бактерий фаготерапии [Gutiérrez, Domingo-Calap, 2020]. Предлагают проводить разные варианты скрининга фаговых видов с таргетными свойствами против конкретных бактериальных патогенов [Expansion of bacteriophages ... , 2019; Oral application ... , 2015; Sabino, Hirten, Colombel, 2020; Разработка подходов ... , 2021; Биоинформационный поиск структур ... , 2018]. Однако работы осложняются недостаточностью знаний о молекулярно-геномных механизмах антагонистических взаимоотношений между бактериями и фагами.

Сегодня известно, что ведущую роль в таких взаимоотношениях играют системы CRISPR-Cas у бактерий и anti-CRISPR-Cas у фагов [Engineered bacteriophages ... , 2022; Inactivation of CRISPR-Cas ... , 2016; Ecology and evolution ... , 2023]. Здесь в первую очередь необходимы фундаментальные знания структурно-функциональных особенностей строения CRISPR-Cas-систем бактерии, через которые возможно типировать конкретные фаги, способные лизировать специфичные им бактерии [Phages, anti-CRISPR ... , 2022; Сравнительный анализ CRISPR ... , 2018; Биоинформационный поиск структур ... , 2018; Поиск и анализ CRISPR ... , 2018; Структуры CRISPR/Cas ... , 2020]. Определение чувствительности бактерий к фагам – давно применяемый лабораторный метод, однако он не предоставляет информацию о взаимоотношениях генов Cas-белков в системах CRISPR-Cas. Зато современные *in silico* методы геномики и биоинформатики позволяют программно моделировать любые процессы, происходящие в CRISPR/Cas системах у бактерий [CRISPRTarget: bioinformatic..., 2013; Hashemi, 2018]. Главными задачами этих программ прежде всего являются поиск и моделирование расположения генов Cas-белков и спейсеров в CRISPR-кассетах. При знании строения структур CRISPR-Cas-систем бактерий посредством *in silico* методов возможно моделирование процесса отбора вирулентных фагов против отдельного штамма. Этот процесс определяется через спейсерные последовательности в CRISPR-кассетах, которые комплементарны протоспейсерным последовательностям в детектируемых ими фагах [Локусный состав CRISPR..., 2020; Оценка устойчивости ... , 2020].

CRISPR-Cas-системы *S. enterica* из-за обширного разнообразия сероваров изучены недостаточно [CRISPR-Cas diversity ... , 2018; Characterization and evolution ... , 2015; The CRISPR-Cas system ... , 2022], хотя существуют данные о разнообразии в типах CRISPR-Cas-систем, входящих в состав генома *S. enterica* [CRISPR-Cas diversity ... , 2020]. На основе их можно выстроить алгоритм поиска и анализа фаговых детерминантов через комплементарные структуры спейсеров в CRISPR-кассетах, что также позволит определить степень защиты бактерий от этих фагов.

Целью настоящей работы является анализ разнообразия CRISPR-Cas-систем в представленных в базах данных NCBI геномах штаммов *S. enterica*

и детектируемых ими видов фагов и их хозяев с применением методов геномики и биоинформатики *in silico*, включая оценку степени их доминантного влияния на исследуемые бактерии.

Материалы и методы

Исследованы геномы 449 штаммов *Salmonella enterica* из базы данных GenBank (NCBI) (табл. 1). В исследуемой выборке были представлены 12 различных серотипов *S. enterica*. Для анализа *in silico* использовались программные алгоритмы из нескольких методов геномики и биоинформатики по поиску разных локусов и структур CRISPR-Cas-систем. При поиске и изучении локусов генов Cas-белков в CRISPR-Cas-системах *S. enterica* использовались MacSyFinder (Macromolecular System Finder, ver. 1.0.2) и CRISPI: a CRISPR Interactive database (<http://crispi.genouest.org>). Поиск и расшифровку CRISPR-кассет осуществляли при помощи CRISPR R Tool (<http://www.room220.com/crt/>), CRISPI: a CRISPR Interactive database (<http://crispi.genouest.org>), CRISPRFinder (<http://crispr.upsud.fr/Server>) и CRISPRDetect (<http://brabtools./CRISPRDetect.html>). Для скрининга детектируемых фагов через расшифрованные спейсерные последовательности в CRISPR-кассетах использовали CRISPRTarget: explore targets of CRISPR RNAs, Mycobacteriophage Database (<http://phagesdb.org/blast>), Phages database (<http://www.phantome.org>). Принцип последовательных этапов биоинформационного поиска консенсусного варианта Cas-генов и CRISPR-кассет представлен на рис.1.

Таблица 1

Список полногеномных последовательностей исследуемых штаммов *Salmonella enterica* из базы данных NCBI

№	Серовары / число штаммов	Номер штамма в NCBI
1	<i>S. enterica (enterobacteria)???</i> / 253	CP060834; CP090529; CP090541; CP093126; CP093122; CP090539; CP090535; CP092290; CP090533; CP090545; CP060855; CP060852; CP060849; CP060846; CP060840; CP060837; CP075127; CP076095; CP076093; CP076096; CP076092; CP076088; CP076086; CP093386; CP092861; CP093392; CP092075; CP093391; CP093390; CP092329; CP092314; CP092318; CP092311; CP092326; CP092307; CP092297; CP092301; CP092294; CP092304; CP077664; CP077662; CP089209; CP089207; CP077670; CP051213; CP081187; CP081189; CP060512; CP080091; CP080091; CP077668; CP085981; CP085983; CP085987; CP052778; CP028357; CP053404; CP035639; CP053414; CP053585; CP053579; CP030794; CP040701; CP053406; CP040699; CP053413; CP034232; CP034233; CP015724; CP040380; CP074659; CP074658; CP075050; CP075046; CP075045; CP075044; CP075043; CP075017; CP075011; CP074331; CP074644; CP074643; CP074653; CP074640; CP074639; CP074636; CP074633; CP074632; CP074630; CP074652; CP074628; CP074627; CP074626; CP074625; CP074623; CP074651; CP074620; CP075143; CP075141; CP075140; CP075138; CP075137; CP075135; CP075125; CP029038; CP029039; CP029040; CP075110; CP075107; CP028172; CP075106; CP073107; CP075104; CP075103; CP075101; CP068788; CP068786; CP068784; CP042443; CP042438;

Продолжение табл. 1

№	Серовары / число штаммов	Номер штамма в NCBI
		CP042440; CP052780; CP029593; CP029595; CP029568; CP041622; CP074650; CP037891; CP075035; CP066047; CP066009; CP069518; CP022062; CP027412; CP050968; CP046283; CP026052; CP046279; CP046278; CP046277; CP055130; CP046291; CP054901; CP065718; CP065890; CP065639; CP012396; CP015598; CP015574; CP017232; CP017177; CP023436; CP026713; CP025736; CP037894; CP069166; CP050833; CP060585; CP065419; CP079839; CP014051; CP030749; CP025745; CP026569; LS483495; CP075372; CP075117; CP043773; CP046429; CP035917; CP035915; CP030207; CP030219; CP030214; CP030231; CP030209; CP030202; CP030238; CP030217; CP030223; CP030203; CP030185; CP030180; CP030233; CP030190; AP020330; AP020332; CP060515; CP020101; CP066318; CP066324; CP066321; CP082954; LR134156; CP011289; CP011292; CP011288; CP034074; CP075144; CP023345; CP078142; LS483474; CP053335; CP053583; CP029989; CP022142; CP030026; CP053319; CP075128; CP054422; CP053323; CP022135; CP059886; CP067078; CP067082; CP088146; CP076466; CP082338; CP092911; CP020492; CP039588; CP039277; CP026660; CP020922; CP043027; CP044188; CP044186; CP044184; CP044177; CP023468; CP023470; CP033387; CP033257; CP033226; CP033350; CP033255; CP033384; CP033352; CP033356; CP074665; CP074671; CP074312; CP074310; CP074309; CP074307; CP074306; CP077710; CP077706; CP077699; CP077696; CP077693; CP077691; CP037892; CP033360; CP043765; CP052767; CP018219; LR134232; LR134190; LR134146; LR134144; LR134143; LR134147; LR134153; LR134148; LR134233; CP022658; CP022663; CP047115; CP070222; CP067339; CP021909; CP035301; WUQC01000001; WUPX01000001
2	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Agona / 34	CP071388; CP051356; CP082615; CP082595; CP082409; CP082409; CP082482; CP082456; CP082431; CP082488; CP093411; CP093407; CP093402; CP093405; CP093403; CP090929; CP090930; CP074278; CP051402; CP048775; CP025445 CP025446; CP025454; CP025447; CP025448; CP025449; CP025450; CP025451; CP025452; CP025453; CP006876; CP015024; CP011259; CP001138
3	<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> / 19	CP011289; CP011292; CP011288; CP034074; CP075144; CP023345; CP078142; LS483474; CP053335; CP053583; CP029989; CP022142; CP030026; CP030026; CP075128; CP054422; CP053323; CP022135; CP059886
4	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Abae- tetuba / 2	CP007532; CP074211
5	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Muenchen / 11	CP088901; CP051416; CP082727; CP082684; CP082506; CP075048; CP074332; CP051389 ; CP045056; CP045059; CP045063
6	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Newlands / 1	CP082916
7	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Newport / 48	CP082641; CP082598; CP082547; CP082478; CP082439; CP013685; CP012597; CP012598; CP012599; CP016010; CP016014; CP016012; CP075034; CP075033; CP075022; CP074337; CP074333; CP074330; CP074327; CP074264; CP074656; CP051317; CP041208; CP039437; CP039436; CP025248; CP025243; CP074606; CP010282; CP010283; CP009565; CP010279; CP01028; CP010284; CP009561; CP015923; CP015924; CP001113; CP025273; CP025230; CP025234; CP007216; CP025237; CP025241; CP006631; CP074207; CP016357

Окончание табл. 1

№	Серовары / число штаммов	Номер штамма в NCBI
8	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Oranienburg / 3	CP075041; CP033344; CP019197
9	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Montevideo / 28	CP082500; CP082451; CP082449; CP082436; CP032816; CP074589; CP074338; CP074244; CP029336; CP040379; CP037893; CP074322; CP007530; CP029035; CP017974; CP017975; CP020752; CP020912; CP017976; CP017977; CP017978; CP007540; CP074299; CP017970; CP017971; CP007222; CP017972; CP017973
10	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Kentucky / 33	CP082747; CP082654; CP082619; CP082716; CP082602; CP082698; CP082695; CP082582; CP082570; CP082565; CP082535; CP069813; CP089799; CP089798; CP089797; CP089796; CP089795; CP089794; CP089794; CP089792; CP089791; CP089790; CP089789; CP089788; CP043664; CP074339; CP074247; CP074246; CP074242; CP051346; CP037917; CP026327; CP039439
11	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Adjame / 12	CP054827; CP049878; CP049873; CP049874; CP049880; CP049883; CP049875; CP049877; CP049879; CP049884; CP049882; CP049881
12	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Schwarzengrund / 1	CP001127

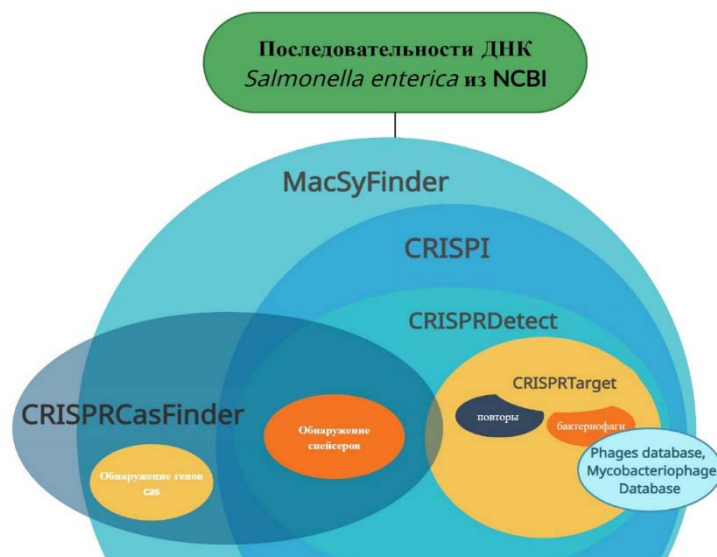


Рис. 1. Схема поискового алгоритма методами *in silico* структур консенсусных вариантов *cas*-генов, повторяющихся и спейсерных последовательностей в CRISPR-Cas-системах в геномах *S. enterica*

Результаты и обсуждение

В результате поиска генов *Cas*-белков в 449 штаммах *S. enterica* из базы данных GenBank было установлено, что выявленная CRISPR-Cas-система относится к CAS-Типу I-E. В каждом анализируемом штамме присутствовали гены следующих *Cas*-белков: Cas1_0_I-E_7, Cas2_0_I-E_8, Cas3_0_I_1, Cas5_0_I-E_5, Cas6_0_I-E_6, Cas7_0_I-E_4, Cse1_0_I-E_2, Cse2_0_I-E_3. Для каждого гена была получена информация о его последовательности и расположении в анализируемых геномах исследуемых штаммов *S. enterica*. Неоднородностей строения и разнообразия CRISPR-Cas-систем обнаружено не было. Пример расположения локусов CRISPR-Cas в геномах исследуемых штаммов *S. enterica* представлен на рис. 2.

Идентификацию последовательностей повторов в CRISPR-кассетах, как и идентификаторов CRISPR-кассет, проводили по результатам обнаружения инструментами CRISPR RT; CRISPI: CRISPR-interactive database; CRISPRsFinder; CRISPRDetect. Получаемые результаты фиксации последовательностей считались достоверными при условии совпадения повторов и спейсеров, обнаруживаемых двумя и более программами. Все анализируемые штаммы содержали гены *cas* и CRISPR-кассеты. Число обнаруженных кассет составляло от 1 до 3, а спейсеров – от 8 до 30. Пар нуклеотидных оснований, составляющих уникальные повторы, насчитывалось от 27 до 29. На рис. 3 представлен пример повторяющейся последовательности CRISPR-кассеты, в которой высота нуклеотида определяет частоту его встречаемости.

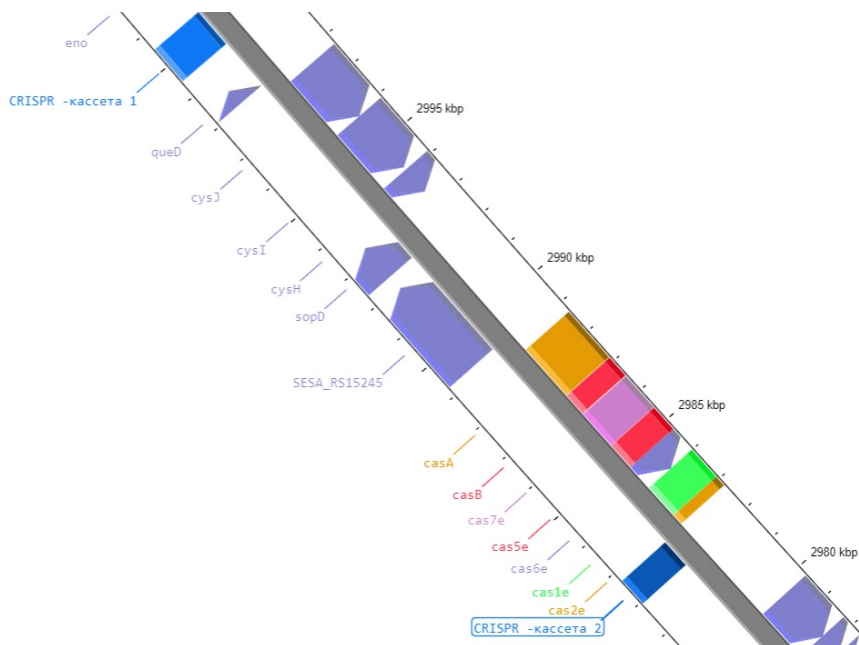


Рис. 2. Пример расположения *Cas*-генов и двух CRISPR-кассет в геноме штамма *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Schwarzengrund str. CVM19633

ходить межвидовой генетический обмен информацией. Также можно констатировать, что разнообразие видов фагов к конкретным спейсерам в CRISPR-кассетах в исследуемых штаммах *S. enterica* является следствием эволюционного отбора в ходе антагонистических взаимоотношений между бактериями и фагами соответственно через их CRISPR-Cas и анти-CRISPR-системы.

Таблица 2

Пример нуклеотидного совпадения спейсерной последовательности № 2 штамма *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Adjame CP049875.1 с протоспейсерами бактериофагов

Спейсерная последовательность	Число совпадений н. о.	Бактериофаг
AGCGCGGAAUGAUUUUUAACGCUGAGAUGGUA	29	KU760857 <i>Salmonella</i> phage SJ46
	29	FO818745 <i>Escherichia</i> phage RCS47
	29	AF503408 <i>Enterobacteria</i> phage P7
	28	OK490416 <i>Klebsiella</i> phage Kp4864-1

На основании этого мы считаем, что выбор целевого вида фагов в лечебных целях необходимо осуществлять с учётом результатов поиска и анализа геномов фагов через спейсерные последовательности в CRISPR-кассетах исследуемых бактерий. Как видно из табл. 2, отличия в несколько нуклеотидов в спейсере указывают на принадлежность фрагмента другому бактериофагу. Следует также уделить внимание тому факту, что применение фаговых препаратов, содержащих комплементарные фрагменты к спейсерам у патогенного штамма бактерии, приведёт к уничтожению фага, следствием которого станет неэффективное лечение инфекции, вызываемое этим патогеном. Также может выработаться эволюционная устойчивость к конкретному фагу этого штамма бактерий через их CRISPR-Cas-системы. Результаты работы позволяют рекомендовать исключать варианты полного нуклеотидного совпадения последовательностей спейсеров в CRISPR-кассетах бактерий с последовательностями протоспейсеров фагов. Это будет способствовать скринингу целевых фагов, что станет надёжным залогом разработки эффективной терапии и успешного лечения инфекций, вызываемых *S. enterica*.

Заключение

Результаты анализа CRISPR-Cas-систем в геномах различных сероваров *S. enterica* из базы данных GenBank демонстрируют уникальное строение этой системы. Поэтому необходимость использования *in silico* программных методов геномики и биоинформатики в изучении проблем разработки перспективной целевой фаготерапии бактериальных инфекций является первоочередной. Полученные данные о генах и кассетах, входящих в состав CRISPR-Cas-системы исследуемых штаммов *S. enterica*, демонстрируют однородность её строения. Вполне возможно, что стабильное строение

CRISPR-Cas-системы объясняется приспособленностью исследуемых штаммов сальмонелл к внутривидовым и межвидовым отношениям. Имеющиеся косвенные данные позволяют предположить, что анализируемые штаммы *S. enterica*, циркулирующие преимущественно среди человека и животных, объясняют причину однородности CRISPR-Cas-систем и укоренению CAS-типа I-E в геномах бактерии. Демонстрация межвидовой защиты штаммов исследуемых сальмонелл, находящихся в одном биотопе с многочисленным семейством *Enterobacteria*, а также *Staphylococcus* и *Enterococcus* позволила убедиться в возможности межвидовой передачи защитных механизмов CRISPR-Cas-систем через идентичные спейсеры. Использование полученных данных о строении CRISPR-Cas-систем типа I-E и об обнаруженных последовательностях спейсеров штаммов *S. enterica* позволит в перспективе осуществлять индивидуальную терапию с уменьшением сроков течения вызываемых заболеваний. Возможное применение таргетных фагов на фермах и в пищевой промышленности в качестве сдерживающего механизма распространения сальмонелл снизит риск распространения антибиотикорезистентности сальмонеллезных бактерий в мире. В перспективе на основе дизайна этого лабораторного подхода можно будет создать банк данных структурного разнообразия сайтов структур CRISPR-Cas-систем сальмонелл, включая их выявленные спейсеры и протоспейсеры фагов. Это откроет новые возможности разработки технологии эффективной таргетной фаговой терапии бактериальных сальмонеллезных инфекций, циркулирующих среди человека и животных.

Список литературы

Биоинформационный поиск структур CRISPR/Cas-системы в геноме плазмиды PCT281 штамма *Bacillus thuringiensis* SUBSP. CHINENSIS CT-43 / Н. А. Арефьева, Ю. П. Джиоев, А. Ю. Борисенко, В. И. Чемерилова, О. Ф. Вятчина, О. А. Секерина, Л. А. Степаненко, Ю. А. Маркова, Г. В. Юринова, В. П. Саловарова, А. А. Приставка, В. А. Кузьминова, О. Н. Рева, В. И. Злобин // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2018. Т. 3, № 5. С. 33–38. <https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.5>

Биоинформационный поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геноме штамма *Staphylococcus aureus* и оценка профилей фаговых рас, детектируемых через CRISPR-кассету бактерий / А. Ю. Борисенко, Ю. П. Джиоев, Н. П. Перетолчина, Л. А. Степаненко, В. А. Кузьминова, Л. А. Кокорина, Ю. М. Землянская, Н. А. Арефьева, О. Н. Рева, И. Ванг, Ч. Ку, В. И. Злобин // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2018. Т. 3, № 5. С. 49–53. <https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.7>

Локусный состав CRISPR-Cas системы *Yersinia pseudotuberculosis* различных генетических вариантов / Н. П. Перетолчина, В. Т. Климов, Е. А. Воскресенская, Г. И. Кокорина, Е. А. Богумильчик, А. Л. Трухачев, С. В. Игумнова, Ю. П. Джиоев, В. И. Злобин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19, № 2. С. 31–39. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-31-39>

Оценка устойчивости штаммов *Staphylococcus aureus* с выявленными структурами CRISPR/Cas-систем к различным фаговым расам / Ю. П. Джиоев, А. Ю. Борисенко, Л. А. Степаненко, Ю. М. Землянская, Н. П. Перетолчина, В. А. Кузьминова, Н. А. Арефьева, Я. А. Портная, О. Г. Карноухова, Г. Ю. Коган, В. И. Злобин // Актуальные проблемы науки Прибайкалья. Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2020. С. 85–90.

Поиск и анализ CRISPR-cas системы в штамме *Escherichia coli* HS и детектируемых спейсерами его CRISPR-кассеты фаговых рас методами биоинформатики / Е. И. Иванова, Ю. П. Джиоев, А. Ю. Борисенко, Н. П. Перетолчина, Л. А. Степаненко, А. И. Парамонов,

Е. В. Григорова, У. М. Немченко, Т. В. Туник, Е. А. Кунгурцева // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2018. № 2. С. 28–34. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2018.019>

Разработка подходов скрининга высокоспецифичных бактериофагов на основе биоинформационного анализа структур CRISPR-Cas систем *Corynebacterium diphtheria* / Л. А. Степаненко, Ю. П. Джиоев, В. И. Злобин, А. Ю. Борисенко, В. П. Саловарова, Н. А. Арефьева, И. Ж. Семинский, И. В. Малов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11, № 2 (37). С. 216–227. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-216-227>

Сравнительный анализ CRISPR-систем штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 / Н. П. Перетолчина, А. Ю. Борисенко, Ю. П. Джиоев, В. И. Злобин // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2018. Т. 3, № 5. С. 54–59. <https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.8>

Структуры CRISPR/Cas-системы в геноме штамма *Staphylococcus aureus* ST228 и фаговых рас, детектируемых методами биоинформатики / А. Ю. Борисенко, Ю. П. Джиоев, Л. А. Степаненко, Ю. М. Землянская, Н. П. Перетолчина, Н. А. Арефьева, Ю. С. Букин, Е. Б. Ракова, Л. А. Кокорина, Я. А. Портная, О. Ф. Вятчина, А. С. Мартынова, Л. А. Францева, В. В. Васильев, Г. А. Тетерина, В. П. Саловарова, Е. В. Симонова, В. И. Злобин // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2020. Т. 31. С. 3–18. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.3>

A genomic overview of the population structure of *Salmonella* / N. F. Alikhan, Z. Zhou, M. J. Sergeant, M. Achtman // PLoS Genet. 2018. Vol. 14, N 4. e1007261. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007261>

A historical, economic, and technical-scientific approach to the current crisis in the development of antibacterial drugs: Promising role of antibacterial peptides in this scenario / Y. A. S. Guevara, M. H. C. Santos, F. I. R. Gomes, Sheheryar, F. P. Mesquita, P. F. N. Souza // Microb. Pathog. 2023. Vol. 179. 106108. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106108>

Antimicrobial resistance and management of invasive *Salmonella* disease / S. Kariuki, M. A. Gordon, N. Feasey, C. M. Parry // Vaccine. 2015. Vol. 33, Suppl. 3. P. C21–C29. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.102>

Characterization and evolution of *Salmonella* CRISPR-Cas systems / N. Shariat, R. E. Timme, J. B. Pettengill, R. Barrangou, E. G. Dudley // Microbiology (Reading). 2015. N161(2). P. 374–386. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000005.43>

Cooper L. A., Stringer A. M., Wade J. T. Determining the Specificity of Cascade Binding, Interference, and Primed Adaptation In Vivo in the *Escherichia coli* Type I-E CRISPR-Cas System // mBio. 2018. Vol. 9, N 2. P. e02100-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.02100-17>

CRISPR-Cas Diversity in Clinical *Salmonella enterica* Serovar Typhi Isolates from South Asian Countries / A. M. Anmoy, C. Saha, M. S. I. Sajib, S. Saha, F. Komurian-Pradel, A. van Belkum, R. Louwen, S. K. Saha, H. P. Endtz // Genes (Basel). 2020. Vol. 11(11). P. 1365. <https://doi.org/10.3390/genes11111365>

CRISPRTarget: bioinformatic prediction and analysis of crRNA targets / A. Biswas, J. N. Gagnon, S. J. Brouns, P. C. Fineran, C. M. Brown // RNA Biol. 2013. Vol. 10, Is. 5. P. 817–827. <https://doi.org/10.4161/rna.24046>

Detection of *Salmonella* spp. using a generic and differential FRET-PCR / J. Zhang, L. Wei, P. Kelly, M. Freeman, K. Jaegeron, J. Gong, B. Xu, Zh. Pan, Ch. Xu, Ch. Wang // PLoS One. 2013. Vol. 8(10). e76053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076053>

Ecology and evolution of phages encoding anti-CRISPR proteins / B. J. Pons, S. van Houte, E. R. Westra, A. Chevallerea // J. Mol. Biol. 2023. Vol. 435, Is. 7. 167974. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2023.167974>

Engineered Bacteriophages Containing Anti-CRISPR Suppress Infection of Antibiotic-Resistant *P. aeruginosa* / S. Qin, Y. Liu, Y. Chen, J. Hu, W. Xiao, X. Tang // Microbiol. Spectr. 2022. Vol. 10, N 5. e0160222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01602-22>

Expansion of Bacteriophages Is Linked to Aggravated Intestinal Inflammation and Colitis / L. Gogokhia, K. Buhrke, R. Bell, B. Hoffman, D. G. Brown, C. Hanke-Gogokhia, N. J. Ajami, M. C. Wong, A. Ghazaryan, J. F. Valentine // Cell Host Microbe. 2019. Vol. 25, Is. 2. P. 285–299. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.008>

Gal-Mor O. Persistent Infection and Long-Term Carriage of Typhoidal and Nontyphoidal *Salmonellae*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018. Vol. 32, N 1. e00088-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-18>

Genome-scale metabolic reconstructions of multiple *Salmonella* strains reveal serovar-specific metabolic traits / Y. Seif, E. Kavvas, J-Ch. Lachance, J. T. Yurkovich, S-P. Nuccio, X. Fang // *Nat. Commun.* 2018. Vol. 9(1). 3771. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06112-5>

GrapeTree: Visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens / Z. Zhou, N. F. Alikhan, M. J. Sergeant, N. Luhmann, C. Vaz, A. P. Francisco, J. A. Carriço, M. Achtman. *BioRxiv.* 2017. <https://doi.org/10.1101/216788>

Gutiérrez B., Domingo-Calap P. Phage Therapy in Gastrointestinal Diseases. // *Microorganisms.* 2020. Vol. 8, Is. 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091420>

Hashemi A. CRISPR-cas System as a Genome Engineering Platform: Applications in Biomedicine and Biotechnology // *Curr. Gene Ther.* 2018. Vol. 18, Is. 2. P. 115–124. <https://doi.org/10.2174/1566523218666180221110627>

Inactivation of CRISPR-Cas systems by anti-CRISPR proteins in diverse bacterial species / A. Pawluk, R. H. Staals, C. Taylor, B. N. Watson, S. Saha, P. C. Fineran // *Nat. Microbiol.* 2016. Vol. 1. 16085. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.85>

Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea / A. L. Shane, R. K. Mody, J. A. Crump, Ph. I. Tarr, Th. S. Steiner, K. Kotloff // *Clin. Infect. Dis.* 2017. Vol. 65, N 12. P. e45-e80. <https://doi.org/10.1093/cid/cix669>

Knodler L. A., Elfenbein J. R. *Salmonella enterica*. *Trends Microbiol.* 2020. Vol. 28, Is. 1. P.83. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.10.014>

Molecular phylogeny of the Salmonellae: relationships among *Salmonella* species and subspecies determined from four housekeeping genes and evidence of lateral gene transfer events / J. R. McQuiston, S. Herrera-Leon, B. C. Wertheim, J. Doyle, P. I. Fields, R. V. Tauxe, J. M. Logsdon Jr. // *J. Bacteriol.* 2008. Vol. 190, N 21. P. 7060–7067. <https://doi.org/10.1128/JB.01552-07>

Oral Application of T4 Phage Induces Weak Antibody Production in the Gut and in the Blood / J. Majewska, W. Beta, D. Lecion, K. Hodyra-Stefaniak, A. Klopot, Z. Kazmierczak // *Viruses.* 2015. Vol. 7, Is. 8. P. 4783–4799. <https://doi.org/10.3390/v7082845>

Phages, anti-CRISPR proteins, and drug-resistant bacteria: what do we know about this triad? / A. Ceballos-Garzon, A. B. Muñoz, J. D. Plata, Z. A. Sanchez-Quitian, J. Ramos-Vivas // *Pathog. Dis.* 2022. Vol. 80, Is. 1. ftac039. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftac039>

Porwollik S., McClelland M. Lateral gene transfer in *Salmonella*. *Microbes Infect.* 2003. Vol. 5, Is. 1. P. 977–989. doi: [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00186-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00186-2)

Rapid detection of *Salmonella* contamination in seafoods using multiplex PCR / B. Sahu, S. D. Singh, B. K. Behera, S. K. Panda, A. Das, P. K. J. Parida // *Braz. Microbiol.* 2019. Vol. 50. P. 807–816. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00072-8>

Sabino J., Hirten R. P., Colombel J. F. Bacteriophages in gastroenterology—from biology to clinical applications. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2020. Vol. 51, Is. 1. P. 53–63. <https://doi.org/10.1111/apt.15557>

Supplement 2008–2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme / S. Issenhuth-Jeanjean, P. Roggentin, M. Mikoleit, M. Guibourdenche, E. de Pinna, S. Nair, P. I. Fields, F. X. Weill // *Res. Microbiol.* 2014. Vol. 165, Is. 7. P. 526–530. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.004>

The CRISPR-Cas System Differentially Regulates Surface-Attached and Pellicle Biofilm in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium / N. Sharma, A. Das, P. Raja, S. A. Marathe // *Microbiol. Spectr.* 2022. Vol. 10, N 3. e0020222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00202-22>

Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis / R. G. Ferrari, D. K. A. Rosario, A. Cunha-Neto, S. B. Mano, E. E. S. Figueiredo, C. A. Conte-Junior // *Appl. Environ. Microbiol.* 2019. Vol. 85, N 14. <https://doi.org/10.1128/AEM.00591-19>

References

Arefeva N.A., Dzhioev Yu.P., Borisenko A.Yu., Chemerilova V.I., Vyatchina O.F., Sekerina O.A., Stepanenko L.A., Markova Yu.A., Yurina G.V., Salovarova V.P., Pristavka A.A., Kuz'minova V.A., Reva O.N., Zlobin V.I. Bioinformatsionnyi poisk struktur CRISPR/Cas-sistemy v genome plazmidy PCT281 shtamma *Bacillus thuringiensis* SUBSP. CHINENSIS CT-43. *Acta Bio-*

medica Scientifica, 2018, vol. 3, no. 5, pp. 33-38. <https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.5> (in Russian)

Borisenko A.Yu., Dzhioev Yu.P., Peretolchina N.P., Stepanenko L.A., Kuzminova V.A., Kokorina L.A., Zemlyanskaya Yu.M., Arefieva N.A., Reva O.N., Wang I., Ku C., Zlobin V.I. Bioinformatsionnyi poisk i analiz struktur CRISPR/Cas-sistem v genome shtamma *Staphylococcus aureus* i otsenka profilei fagovykh ras, detektiruemykh cherez CRISPR-kassetu bakterii [Bioinformation search and analysis of the structures of CRISPR/Cas systems in the genome of the *Staphylococcus aureus* strain and assessment of the profiles of phage races detected through the bacterial CRISPR cassette]. *Acta Biomedica Scientifica*, 2018, vol. 3, no. 5, pp. 49-53. <https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.7> (in Russian)

Alikhan N.F., Zhou Z., Sergeant M.J., Achtman M. A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. *PLoS Genet.*, 2018, vol. 14, no. 4, e1007261. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007261>

Peretolchina N.P., Klimov V.T., Voskresenskaya E.A., Kokorina G.I., Bogumil'chik E.A., Trukhachev A.L., Igumnova S.V., Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I. Lokusnyi sostav CRISPR-Cas sistemy *Yersinia pseudotuberculosis* razlichnykh geneticheskikh variantov [Locus composition of the CRISPR-Cas system of *Yersinia pseudotuberculosis* of various genetic variants]. *Epidemiology and vaccine prevention*, 2020, vol. 19, no. 2, pp. 31-39. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-31-39> (in Russian)

Dzhioev Yu.P., Borisenko A.Yu., Stepanenko L.A., Zemlyanskaya Yu.M., Peretolchina N.P., Kuz'minova V.A., Aref'eva N.A., Portnaya Ya.A., Karnoukhova O.G., Kogan G.Yu., Zlobin V.I. Otsenka ustoichivosti shtammov *Staphylococcus aureus* s vyyavlennymi strukturami CRISPR/Cas-sistem k razlichnym fagovym rasam [Assessment of the resistance of *Staphylococcus aureus* strains with identified CRISPR/Cas-system structures to various phage races]. *Aktualnye problemy nauki Pribaikal'ya* [Current problems of science in the Baikal region]. Irkutsk, Irkutsk St. Univ. Publ., 2020, pp. 85-90. (in Russian)

Ivanova E.I., Dzhioev Yu.P., Borisenko A.Yu., Peretolchina N.P., Stepanenko L.A., Paramonov A.I., Grigorova E.V., Nemchenko U.M., Tunik T.V., Kungurtseva E.A. Poisk i analiz CRISPR-cas sistemy v shtamme *Escherichia coli* HS i detektiruemykh speiserami ego CRISPR-kassety fagovykh ras metodami bioinformatiki [Search and analysis of the CRISPR-cas system in the *Escherichia coli* HS strain and phage races detected by its CRISPR-cassette spacers using bioinformatics methods]. *Bull. Russ. St. Med. Univ.*, 2018, no. 2, pp. 28-34. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2018.019> (in Russian)

Stepanenko L.A., Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I., Borisenko A.Yu., Salovarova V.P., Aref'eva N.A., Seminskii I.Zh., Malov I.V. Razrabotka podkhodov skringinga vysokospetsifichnykh bakteriofagov na osnove bioinformatsionnogo analiza struktur CRISPR-Cas sistem *Corynebacterium diphtheria* [Development of approaches for screening highly specific bacteriophages based on bioinformatic analysis of the structures of CRISPR-Cas systems of *Corynebacterium diphtheria*]. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 2021, vol.11, no. 2 (37), pp. 216-227. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-216-227> (in Russian)

Peretolchina N.P., Borisenko A.Yu., Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I. Sravnitelnyi analiz CRISPR-sistem shtammov *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 i IP31758 [Comparative analysis of CRISPR systems of *Yersinia pseudotuberculosis* strains IP32953 and IP31758]. *Acta Biomedica Scientifica*, 2018, vol. 3, no. 5, pp. 54-59. <https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.8>

Borisenko A.Yu., Dzhioev Yu.P., Stepanenko L.A., Zemlyanskaya Yu.M., Peretolchina N.P., Aref'eva N.A., Bukin Yu.S., Rakova E.B., Kokorina L.A., Portnaya Ya.A., Vyatchina O.F., Martynova A.S., Frantseva L.A., Vasil'ev V.V., Teterina G.A., Salovarova V.P., Simonova E.V., Zlobin V.I. Struktury CRISPR/Cas-sistemy v genome shtamma *Staphylococcus aureus* ST228 i fagovykh ras, detektiruemykh metodami bioinformatiki [Structures of the CRISPR/Cas system in the genome of *Staphylococcus aureus* strain ST228 and phage races detected by bioinformatics methods]. *Bull. Irkutsk St. Univ. Ser. Biol. Ekol.*, 2020, vol. 31, pp. 3-18. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.3> (in Russian)

Guevara Y.A.S., Santos M.H.C., Gomes F.I.R., Sheheryar, Mesquita F.P., Souza P.F.N. A historical, economic, and technical-scientific approach to the current crisis in the development of antibacterial drugs: Promising role of antibacterial peptides in this scenario. *Microb. Pathog.*, 2023, vol. 179, 106108. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106108>

- Kariuki S., Gordon M.A., Feasey N., Parry C.M. Antimicrobial resistance and management of invasive *Salmonella* disease. *Vaccine*, 2015, vol. 33, suppl. 3, pp. C21-C29. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.102>
- Shariat N., Timme R.E., Pettengill J.B., Barrangou R., Dudley E.G. Characterization and evolution of *Salmonella* CRISPR-Cas systems. *Microbiology (Reading)*, 2015, no. 161, pt. 2, pp. 374-386. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000005.43>
- Cooper L.A., Stringer A.M., Wade J.T. Determining the Specificity of Cascade Binding, Interference, and Primed Adaptation In Vivo in the *Escherichia coli* Type I-E CRISPR-Cas System. *mBio*, 2018, vol. 9, no. 2, p. e02100-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.02100-17>
- Anmoy A.M., Saha C., Sajib M.S.I., Saha S., Komurian-Pradel F., van Belkum A., Louwen R., Saha S.K., Endtz H.P. CRISPR-Cas Diversity in Clinical *Salmonella enterica* Serovar Typhi Isolates from South Asian Countries. *Genes (Basel)*, 2020, vol. 11(11), p. 1365. <https://doi.org/10.3390/genes11111365>
- Biswas A., Gagnon J.N., Brouns S.J., Fineran P.C., Brown C.M. CRISPRTarget: bioinformatic prediction and analysis of crRNA targets. *RNA Biol.* 2013, vol. 10, is. 5, pp. 817-827. <https://doi.org/10.4161/rna.24046>
- Zhang J., Wei L., Kelly P., Freeman M., Jaegeron K., Gong J., Xu B., Pan Zh., Xu Ch., Wang Ch. Detection of *Salmonella* spp. using a generic and differential FRET-PCR. *PLoS One*, 2013, vol. 8(10). e76053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076053>
- Pons B.J., van Houte S., Westra E.R., Chevallere A. Ecology and evolution of phages encoding anti-CRISPR proteins. *J. Mol. Biol.*, 2023, vol. 435, is. 7, 167974. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2023.167974>
- Qin S., Liu Y., Chen Y., Hu J., Xiao W., Tang X. Engineered Bacteriophages Containing Anti-CRISPR Suppress Infection of Antibiotic-Resistant *P. aeruginosa*. *Microbiol. Spectr.*, 2022, vol. 10, no. 5. e0160222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01602-22>
- Gogokhia L., Buhrke K., Bell R., Hoffman B., Brown D.G., Hanke-Gogokhia C., Ajami N.J., Wong M.C., Ghazaryan A., Valentine J.F. Expansion of Bacteriophages Is Linked to Aggravated Intestinal Inflammation and Colitis. *Cell Host Microbe*, 2019, vol. 25, is. 2, pp. 285-299. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.008>
- Gal-Mor O. Persistent Infection and Long-Term Carriage of Typhoidal and Nontyphoidal *Salmonellae*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2018, vol. 32, no. 1, e00088-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-18>
- Seif Y., Kavvas E., Lachance J-Ch., Yurkovich J.T., Nuccio S-P., Fang X. Genome-scale metabolic reconstructions of multiple *Salmonella* strains reveal serovar-specific metabolic traits. *Nat. Commun.*, 2018, vol. 9(1), 3771. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06112-5>
- Zhou Z., Alikhan N.F., Sergeant M.J., Luhmann N., Vaz C., Francisco A.P., Carriço J.A., Achtman M. GrapeTree: Visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. *BioRxiv*, 2017. <https://doi.org/10.1101/216788>
- Gutiérrez B., Domingo-Calap P. Phage Therapy in Gastrointestinal Diseases. *Microorganisms*, 2020, vol. 8, is. 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091420>
- Hashemi A. CRISPR-cas System as a Genome Engineering Platform: Applications in Biomedicine and Biotechnology. *Curr. Gene Ther.*, 2018, vol. 18, is. 2, pp. 115-124. <https://doi.org/10.2174/1566523218666180221110627>
- Pawluk A., Staals R.H., Taylor C., Watson B.N., Saha S., Fineran P. Inactivation of CRISPR-Cas systems by anti-CRISPR proteins in diverse bacterial species. *Nat. Microbiol.*, 2016, vol. 1, 16085. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.85>
- Shane A.L., Mody R.K., Crump J.A., Tarr Ph.I., Steiner Th.S., Kotloff K. Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. *Clin. Infect. Dis.*, 2017, vol. 65, no. 12, pp. e45-e80. <https://doi.org/10.1093/cid/cix669>
- Knodler L.A., Effenbein J.R. *Salmonella enterica*. *Trends Microbiol.*, 2020, vol. 28, is. 1, p. 83. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.10.014>
- McQuiston J.R., Herrera-Leon S., Wertheim B.C., Doyle J., Fields P.I., Tauxe R.V., Logsdon Jr. J.M. Molecular phylogeny of the *Salmonellae*: relationships among *Salmonella* species and sub-species determined from four housekeeping genes and evidence of lateral gene transfer events. *J. Bacteriol.*, 2008, vol. 190, no. 21, pp. 7060-7067. <https://doi.org/10.1128/JB.01552-07>

Majewska J., Beta W., Lecion D., Hodyra-Stefaniak K., Kłopot A., Kazmierczak Z. Oral Application of T4 Phage Induces Weak Antibody Production in the Gut and in the Blood. *Viruses*, 2015, vol. 7, is. 8, pp. 4783-4799. <https://doi.org/10.3390/v7082845>

Ceballos-Garzon A., Muñoz A.B., Plata J.D., Sanchez-Quitian Z.A., Ramos-Vivas J. Phages, anti-CRISPR proteins, and drug-resistant bacteria: what do we know about this triad? *Pathog. Dis.*, 2022, vol. 80, is. 1. ftac039. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftac039>

Porwollik S., McClelland M. Lateral gene transfer in Salmonella. *Microbes Infect.*, 2003, vol. 5, is. 1, pp. 977-989. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00186-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00186-2)

Sahu B., Singh S.D., Behera B.K., Panda S.K., Das A., Parida P.K.J. Rapid detection of Salmonella contamination in seafoods using multiplex PCR. *Braz. Microbiol.*, 2019, vol. 50, pp. 807-816. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00072-8>

Sabino J., Hirten R.P., Colombel J.F. Bacteriophages in gastroenterology-from biology to clinical applications. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2020, vol. 51, is. 1, pp. 53-63. <https://doi.org/10.1111/apt.15557>

Issenhuth-Jeanjean S., Roggentin P., Mikoleit M., Guibourdenche M., de Pinna E., Nair S., Fields P.I., Weill F.X. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res. Microbiol.*, 2014 vol. 165, is. 7, pp. 526-530. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.004>

Sharma N., Das A., Raja P., Marathe S.A. The CRISPR-Cas System Differentially Regulates Surface-Attached and Pellicle Biofilm in Salmonella enterica Serovar Typhimurium. *Microbiol. Spectr.*, 2022, vol. 10, no. 3. e020222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00202-22>

Ferrari R.G., Rosario D.K.A., Cunha-Neto A., Mano S.B., Figueiredo E.E.S., Conte-Junior C.A. Worldwide Epidemiology of Salmonella Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2019, vol. 85, no. 14. <https://doi.org/10.1128/AEM.00591-19>

Сведения об авторах

Борисенко Андрей Юрьевич
кандидат биологических наук
старший преподаватель
Иркутский государственный
медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1
e-mail: 89500720225@mail.ru

Арефьева Надежда Александровна
младший научный сотрудник
Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции человека
младший научный сотрудник
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16
младший научный сотрудник
Иркутский противочумный
институт Сибири и Дальнего Востока
Роспотребнадзора РФ
Россия, 664047, ул. Трилисера, 78
лаборант-исследователь
Иркутский государственный
медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1
аспирант
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: arefieva.n4@gmail.com

Information about the authors

Borisenko Andrey Yurievich
Candidate of Science (Biology),
Senior Lecturer
Irkutsk State Medical University
1, Krasnogo Vosstaniya st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: 89500720225@mail.ru

Arefieva Nadezhda Aleksandrovna
Junior Research Scientist
Scientific Centre for Family Health and Human
Reproduction Problems
16, Timiryazev st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
Junior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk. 664047,
Russian Federation
Research Assistant
Irkutsk State Medical University
1, Krasnogo Vosstaniya, Irkutsk, 664003,
Russian Federation
Postgraduate
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: arefieva.n4@gmail.com

Джиоев Юрий Павлович

кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник
Иркутский государственный
медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1
e-mail: alanir07@mail.ru

Dzhioev Yuri Pavlovich

Candidate of Science (Biology),
Leading Research Scientist
Irkutsk State Medical University
1, Krasnogo Vosstaniya st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: alanir07@mail.ru

Эрдынеев Сергей Викторович

аспирант
Иркутский государственный
медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1
лаборант-исследователь
Иркутский противочумный
институт Сибири и Дальнего Востока
Роспотребнадзора РФ
Россия, 664047, ул. Триллссера, 78
e-mail: orry230@yandex.ru

Erdyneev Sergey Viktorovich

Postgraduate Student
Irkutsk State Medical University
1, Krasnoe Vosstanie st., Irkutsk,
664003, Russian Federation
Research Assistant
Irkutsk Anti-Plague Research Institute
of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk. 664047,
Russian Federation
e-mail: orry230@yandex.ru

Букин Юрий Сергеевич

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Лимнологический институт СО РАН
Россия, 664033, Иркутск,
ул. Улан-Баторская, 3
доцент
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: bukinyura@mail.ru

Bukin Yuri Sergeevich

Candidate of Science (Biology),
Senior Research Scientist
Limnological Institute SB RAS
3, Ulaanbaatar st., Irkutsk, 664033,
Russian Federation
Associate Professor
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: bukinyura@mail.ru

Тетерина Галина Александровна

старший преподаватель
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: galina.teterina.91@mail.ru

Teterina Galina Aleksandrovna

Senior Lecturer
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: galina.teterina.91@mail.ru

Приставка Алексей Александрович

кандидат биологических наук, доцент
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: pristavk@gmail.com

Pristavka Aleksey Aleksandrovich

Candidate of Sciences (Biology),
Associate Professor
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: pristavk@gmail.com

Юринова Галина Валерьевна

кандидат биологических наук, доцент
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: yurinova@yandex.ru

Yurinova Galina Valerievna

Candidate of Sciences (Biology),
Associate Professor
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: yurinova@yandex.ru

Антипин Дмитрий Андреевич*аспирант**Иркутский государственный
медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1
e-mail: mieshamecka@yandex.ru***Antipin Dmitry Andreevich***Postgraduate**Irkutsk State Medical University
1, Krasnogo Vosstaniya st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: kagkkris12@gmail.com***Кахиани Кистина Бесиковна***студент**Иркутский государственный
медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1
e-mail: kagkkris12@gmail.com***Kakhiani Kistina Besikovna***Student**Irkutsk State Medical University
1, Krasnogo Vosstaniya st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
kagkkris12@gmail.com***Макарова Ангелина Эдуардовна***студент**Иркутский государственный
медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1
e-mail: eamak18@mail.ru***Makarova Angelina Eduardovna***Student**Irkutsk State Medical University
1, Krasnogo Vosstaniya st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: eamak18@mail.ru***Саловарова Валентина Петровна***доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой**Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: vsalovarova@gmail.com***Salovarova Valentina Petrovna***Doctor of Sciences (Biology), Professor,
Head of Chair**Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: vsalovarova@gmail.com***Злобин Владимир Игоревич***доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН**Иркутский
государственный медицинский университет
Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1;
Национальный исследовательский
центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи
Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18
e-mail: vizlobin@mail.ru***Zlobin Vladimir Igorevich***Doctor of Sciences (Medicine),
Professor, Academician RAS**Irkutsk State Medical University
11, Krasnogo Vosstaniya st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
Gamaleya National Research Center
for Epidemiology and Microbiology
18, Gamaleya st., Moscow, 123098,
Russian Federation
e-mail: vizlobin@mail.ru*