

РОТАЦИЯ ЗАКВАСОК КАК ГЛАВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ КОНТРОЛЯ БАКТЕРИОФАГОВ НА МОЛОЧНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Ирина Сергеевна Полянская, канд. техн. наук, доцент

Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н. В. Верещагина, с. Молочное

E-mail: poljanska69@mail.ru

Бактериофаги остаются одной из основных причин срывов ферментации при производстве сыров и кисломолочных продуктов. В статье показано, что ни одна, даже самая фагоустойчивая закваска не может использоваться бесконечно из-за эволюционной пластичности вирусов. Рассмотрены ключевые механизмы преодоления фагами бактериальных защитных систем (модификация рецепторов, обход CRISPR-Cas, анти-CRISPR белки, системы abortивной инфекции Abi и др.), обоснована необходимость ротации культур. Представлены практические стратегии ротации для заквасок прямого внесения (DVS) и традиционных пересадочных культур, включая рекомендации по частоте смены (от 2–3 дней до нескольких недель) и использованию ротационных серий производителей. Описаны различия между западным (гибкие ротационные планы) и российско-белорусским подходами (ограничение числа пересадок 5–7). Приведены данные по фаговому мониторингу как необходимому элементу управления рисками. Для молокозаводов предложен пошаговый алгоритм действий, включающий оценку фаговой нагрузки, выбор стратегии ротации, комбинацию с санитарными мерами и обучение персонала.

Ключевые слова: бактериофаги, закваски, фагорезистентность, ферментация, abortивная инфекция (Abi)**Для цитирования:** Полянская, И. С. Ротация заквасок как главный инструмент контроля бактериофагов на молочном производстве / И. С. Полянская // Молочная промышленность. 2026. № 5. С. 52–60. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2026-5-106>

ВВЕДЕНИЕ

Молочная промышленность, включая предприятия России, Белоруссии и Казахстана, сталкивается с постоянной угрозой бактериофагов – вирусов, инфицирующих заквасочные культуры молочнокислых бактерий. Фаголизис закваски приводит к замедлению или полной остановке кислотообразования, нарушению консистенции продукта, а в тяжелых случаях – к браковке всей партии. Масштабный проект ГК «СОЮЗСНАБ» (грант РНФ № 24-14-00181), проанализировавший 614 образцов с 74 предприятий, выявил смену доминирующего фагового типа с *Ceduvirus* на *Skunavirus* (55,8 %) и идентифицировал восемь новых сверхадаптивных фагов, способных быстро преодолевать защитные барьеры бактерий. Ежегодно в молочной промышленности России фиксируется 10–15 новых модификаций фагов, поражающих молочнокислые бактерии, а реальное разнообразие значительно выше¹ [1, 2]. В Казахстане, согласно исследованиям, уровень зараженности молочных предприятий фагами оказался на несколько порядков выше, чем в зарубежных странах; при этом наиболее распространенными были фаги видов c2 (P001) и 936 (P008), а в пополненную коллекцию вошли 226 изолятов, выделенных на сыродельных и молочных заводах республики [3].

Белорусские исследователи, в свою очередь, выделили 23 изолята лактофагов на молочных комбинатах, установив таксономический состав: 17 относятся к группе c2, 3 – к 936 и 3 – к P034 [4].

Почему же даже самые современные «фагоустойчивые» закваски не могут использоваться бесконечно? Дело в эволюционной пластичности самих фагов. Бактерии обладают многоуровневой защитой: системы рестрикции-модификации (R-M) разрезают чужеродную ДНК, CRISPR-Cas обеспечивает адаптивный иммунитет, системы abortивной инфекции (Abi) вызывают самоубийство инфицированной клетки, а модификация поверхностных рецепторов блокирует прикрепление фага [5, 6]. У *Lactococcus lactis* описано более 20 различных Abi-систем, а у *Streptococcus thermophilus* основным механизмом является CRISPR-Cas [7, 8]. Однако фаги отвечают быстрыми мутациями: они меняют рецептор-связывающие белки (RBP), чтобы обойти модифицированные бактериальные рецепторы, кодируют метилтрансферазы для маскировки ДНК от R-M, синтезируют анти-CRISPR белки (Acr) и приобретают мутации в протоспейсерах, делающие их устойчивыми к CRISPR-Cas [9, 10]. В казахстанских исследованиях также подчеркивается, что фаги молочнокислых бактерий могут существовать в

¹Сорокина, Н. П. Бактериофаги в молочной промышленности: реальное положение дел и возможные сценарии в будущем / Н. П. Сорокина, А. В. Калинович, И. А. Лаврентьева // Переработка молока. 2025. № 9(311). С. 26–29. <https://elibrary.ru/fryrjc>

лизогенном состоянии (в виде профага внутри бактериальной клетки), что делает культуру скрытым источником инфекции [3]. Российские ученые из ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова и НИУ ВШЭ показали, что даже в заквасках с CRISPR-Cas спейсеры часто не совпадают с геномами циркулирующих фагов, а новые изоляты фагов *Lactococcus lactis* (vL_20A и vL_296) оказались нечувствительными к CRISPR-иммунитету [11, 12].

Из этого следует единственный практически значимый вывод: ни одна, даже самая совершенная закваска не может гарантировать стабильность при длительном непрерывном использовании. Фаги адаптируются, и если не разрывать цикл их эволюции, производство неминуемо столкнется с лизисом. Ротация заквасок, т. е. периодическая смена штаммов или смесей с разными фаготипами, позволяет не дать адаптировавшимся фагам накопить критическую численность. Это признано как западными поставщиками стартовых заквасок (DSM, Chr. Hansen, Sacco)², так и российскими, белорусскими, казахстанскими технологическими школами [2–4]. Без ротации даже самые дорогие и качественные DVS-культуры неизбежно утратят эффективность. Поэтому ротация является не просто полезной мерой, а абсолютной необходимостью для устойчивой работы любого молокозавода, производящего ферментированные продукты.

О механизмах репликации бактериофагов

Объяснение невозможности неограниченного применения одной закваски требует рассмотрения природы взаимоотношений бактерий и бактериофагов, которые носят характер эволюционного противостояния, реализуемого на молекулярном уровне. Исход бактериальной инфекции зависит от того, какой из двух типов жизненного цикла реализует фаг. В литическом цикле фаг захватывает бактериальный метаболический аппарат, заставляя клетку производить сотни новых вирусных частиц, после чего клетка лизируется (разрушается), высвобождая фаговое потомство в окружающую среду. Такой сценарий для молочного завода означает стремительный лизис закваски. Однако существует и лизогенный цикл, при котором фаг («умеренный фаг») не убивает клетку сразу, а встраивает свой геном в хромосому бактерии или сохраняется в виде плазмиды.

В таком состоянии – профага – вирусная ДНК реплицируется синхронно с делением бактерии, передаваясь всем ее потомкам. Именно на этом свойстве основаны попытки создания так называемых «фагоносных» (phage-carrying) культур – многокомпонентных стартерных культур, в которых бактерии и специфические для них литические фаги сосуществуют в динамическом равновесии. Такие культуры в прошлом имели распространение в странах Северной Европы – Дании и скандинавских странах, где на протяжении многих лет использовали одну стартерную закваску для производства сыра. Так, на одном из датских сыродельных заводов закваска, целенаправленно содержащая фаги, использовалась более 11 лет [13]. Однако долгосрочное использование одной закваски привело к появлению все более вирулентных фагов, и в итоге – к сбоям в производстве. Главная опасность для производства заключается в том, что профаги могут спонтанно индуцироваться под действием стрессовых факторов (например, ультрафиолетового облучения или химических агентов), переходя в литический цикл и атакуя другие бактериальные клетки закваски. Таким образом, лизогенная культура, как и закваска, содержащая вирионы, фактически превращаются во врага, представляя собой постоянный скрытый резервуар инфекции [14].

Против постоянной фаговой угрозы бактерии сформировали многоуровневую защитную систему, включающую три последовательных уровня, каждый из которых фаги тем не менее научились преодолевать.

Первый уровень представляет собой защиту на поверхности клетки. Бактерии способны модифицировать структурные рецепторы клеточной стенки, препятствуя адсорбции фага, либо формировать физические барьеры – капсулы и биопленки. В условиях избытка питательных веществ в молоке бактериальная клетка особенно активно изменяет свои рецепторы, что снижает вероятность ее распознавания вирусом. Однако фаги отвечают быстрыми точечными мутациями в генах, кодирующих рецептор-связывающие белки (RBP), или синтезируют специальные ферменты – деполимеразы, способные разрушать матрикс биопленок [15].

Второй уровень защиты срабатывает, если фагу удалось injectировать свою ДНК в клетку. Ключевыми системами здесь являются рестрикции-модифика-

²Foodcom. How to rotate starter cultures to prevent bacteriophage attacks in the dairy plant [Электронный ресурс]. URL: <https://foodcom.it/en/how-to-rotate-starter-cultures-to-prevent-bacteriophage-attacks-in-the-dairy-plant/> (дата обращения: 17.04.2026).

ции (R-M) и CRISPR-Cas. Система R-M действует по простому, но эффективному принципу: собственные нуклеотидные последовательности бактерии метилируются особыми ферментами, а чужеродная ДНК без такой «метки» узнается и разрезается рестриктазами. Для *Streptococcus thermophilus*, наряду с *Lactococcus lactis*, одной из важнейших заквасочных культур, системы R-M и CRISPR-Cas являются основным защитным механизмом [16]. Однако именно CRISPR-Cas считается самым гибким адаптивным иммунитетом: бактерия сохраняет фрагменты ДНК ранее встречавшихся фагов в виде спейсеров, и при повторной атаке Cas-белки разрезают геном вируса по этим участкам. Тем не менее фаги научились обходить и эту защиту. Для этого есть две основные стратегии. Во-первых, фаги кодируют анти-CRISPR белки (Acr), которые связываются с эффекторными белками Cas и напрямую блокируют их активность [9]. Во-вторых, фаги способны точно мутировать протоспейсерную последовательность или PAM-сайт в собственном геноме, что делает их нераспознаваемыми для CRISPR-PHK. Описаны также случаи использования фагами молекул РНК, мимикрирующих под CRISPR-PHK, что позволяет им подавлять систему иммунитета хозяина. Исследования подтверждают, что новые фаги *L. lactis* vL_20A и vL_296 оказались нечувствительными к CRISPR-иммунитету используемых заквасок именно из-за таких молекулярных адаптаций [11, 12].

Третий уровень включает системы запрограммированной гибели клетки: токсин-антитоксин (TA) и абортную инфекцию (Abi). Эти механизмы жертвуют одной зараженной клеткой, чтобы спасти всю популяцию. Системы токсин-антитоксин выполняют роль молекулярного защитного механизма: в физиологических условиях токсин связан с антитоксином и находится в неактивном состоянии, тогда как при фаговой инфекции равновесие смещается, что приводит к активации токсина и подавлению роста клетки. Abi-системы, напротив, вызывают немедленное самоубийство инфицированной клетки до того, как созреют новые фаговые частицы. Особенно разнообразны эти системы у *L. lactis*: многие из них (от AbiA до AbiZ) были впервые открыты именно у лактококков, а недавние открытия еще больше расширили их список [5, 7]. Недавнее совместное исследование выявило в *L. lactis* 13 защитных систем, включая Rhea, Kamadhenu, Rugutis и несколько семейств Abi, а также был открыт уникальный меха-

низм системы Audmula: она модифицирует клеточную стенку бактерии, задерживая клеточный лизис и выход зрелых фаговых частиц, что позволяет клетке-хозяину принести себя в жертву, чтобы защитить популяцию ранее неизвестным механизмом [9].

Однако фаги продолжают эволюционировать, отвечая на каждый бактериальный защитный механизм. Проанализировав 66 фагов, преодолевших системы защиты, исследователи идентифицировали 15 вирусных генов, ответственных за обход этих систем, в том числе за кросс-резистентность к нескольким Abi-системам одновременно [9].

Важно отметить, что даже если фаг не может полностью преодолеть защиту, он может существовать в так называемом «состоянии носительства» (carrier state) при использовании смесевых стартерных культур. В результате такого симбиоза бактериальное сообщество учится терпеть низкий уровень репликации фага, что в долгосрочной перспективе нестабильно и может привести к внезапной вспышке инфекции³. Промышленная практика, в частности, в Дании и других странах Северной Европы показала, что даже при успешном многолетнем использовании одной закваски неизбежно происходит неуклонный рост вирулентности фагов, что в итоге приводит к сбоям и экономическим потерям [13]. Именно поэтому современные производители заквасок (CHR Hansen, Danisco, Sacco, DSM) отказались от концепции «фагоносных» культур в пользу систем ротации.

Источник изображения: magpic.com



³Foodcom. How to rotate...

Ни один штамм, включая наиболее фагоустойчивые, не может применяться бесконечно, поскольку фаги неизбежно преодолевают его защиту, и это определяется временным фактором, а не вероятностью. Пока культура используется, циркулирующая фаговая популяция проходит через циклы естественного отбора, накапливая мутации, позволяющие обходить каждый конкретный защитный барьер. Именно поэтому абсолютной необходимости ротации нет альтернативы. Ротация штаммов, обладающих разными механизмами защиты, является единственным способом противостояния эволюционирующим фагам, что позволяет обеспечить предсказуемость производственного процесса и избежать повторяющегося цикла «закваска – сбой – поиск новой закваски».

Практические стратегии ротации заквасок.

На основе понимания механизмов фагорезистентности и их преодоления, изложенных ранее, можно сформулировать практические правила ротации заквасок – главного инструмента защиты от фагов. Важно сразу подчеркнуть: ротация не имеет абсолютных стандартов. Частота, глубина и схема смены культур зависят от множества факторов: объемов производства, интенсивности использования закваски, фаговой нагрузки на предприятии, конструктивных особенностей цеха, санитарного состояния оборудования и даже от типа используемых заквасок (традиционные, пересадочные или DVS-прямого внесения). Задача состоит в том, чтобы определить оптимальный план, избегая слишком быстрой смены ротаций.

Вариации частоты ротации. На практике частота смены заквасок может варьироваться в широких пределах, хотя встречаются рекомендации менять бактериальный концентрат каждые 2 дня, такая высокая частота ротации экономически и биотехнологически не всегда оправдана. Главный риск чрезмерно частой смены культур – быстрое увеличение разнообразия циркулирующих на предприятии фагов, которое стимулирует появление мутантных форм с более широким спектром литического действия, что в долгосрочной перспективе усугубляет проблему [17–19]. Оптимальной стратегией является плановая замена бактериального препарата на фагоальтернативный с интервалом от 3 до 7 дней, что позволяет поддерживать фаго-

вое разнообразие на контролируемом уровне и избежать резких эволюционных скачков вируса. Такой подход в сочетании с организацией систематического фагового мониторинга (желательно совместно с производителем заквасок) и использованием резервной партии прямого внесения на случай непредвиденного фаголизиса способствует снижению интенсивности мутаций. Это также создает условия для более эффективного санитарного сопровождения технологического процесса.

Традиционный подход: при приготовлении пересадочных заквасок из материнских культур количество пересевов ограничивается 5–7. Каждая новая пересадка повышает риск накопления фаговой инфекции. Этот подход закреплён в методических указаниях Минмясомолпрома СССР (1983 г.) и применяется на предприятиях, где используют классические закваски. Средний интервал (от 3 до 5 дней): в условиях умеренного фагового риска, при первых признаках замедления кислотообразования, рекомендуется ротация с интервалом в несколько дней.

Если же культура подверглась атаке фага, ее заменяют на другую со сходными характеристиками, но из другой фаговой группы, а исходную можно вернуть в производство не ранее чем через 2–3 недели. Норвежские исследования подтверждают, что ротация приводит к радикальной смене фагового разнообразия, но фаги, поражающие исходную культуру, быстро реэмерджируют, что подчеркивает необходимость продуманной, научно обоснованной системы ротации⁴.

Различия между DVS-заквасками (прямого внесения) и традиционными. Различие между традиционными и DVS-заквасками – ключевое понятие в подходах к ротации. Традиционные пересадочные закваски готовятся на самом заводе из материнских заквасок. Поскольку каждая новая пересадка повышает вероятность контаминации фагами, рекомендовано ограничивать число пересадок, после чего материнскую культуру необходимо заменять на фагоальтернативную [19]. Современные DVS-культуры (Direct Vat Set) поставляются производителем в виде концентрированной биомассы и готовы к внесению в пастеризованное молоко. Их ключевые преимущества: стерильность и стандартизация (закваска не готовится на заводе, а вносится

⁴Kleppen, H. P. Studies on bacteriophages infecting lactic acid bacteria of industrial food fermentations. PhD Thesis / H. P. Kleppen. – Norwegian University of Life Sciences. 2012.

непосредственно, или после активации в ферментируемую смесь, что резко снижает риск фаговой контаминации); многокомпонентность и фаговая альтернативность; ответственность за грамотную ротацию во многом перекладывается на производителя, который предлагает готовые ротационные серии. Однако в некоторых случаях производственные закваски предпочтительнее, т. к. они начинают работать сразу после внесения, тогда как для сухих DVS требуется время на реактивацию [20].

Промышленные решения от производителей заквасочных культур. Стратегия ротации стартерных культур является фундаментальным подходом в современной молочной промышленности для минимизации рисков, связанных с бактериофагами. Ее ключевой принцип – чередование штаммов, различающихся по своим механизмам фагорезистентности и, следовательно, устойчивых к разным спектрам фагов, чтобы не дать вирусам адаптироваться и накопиться в производственной среде. Разные компании подходят к ротации по-своему, но все они закладывают этот принцип в дизайн своих продуктов.

Как отмечено в ряде исследований, посвященных борьбе с бактериофагами в молочной промышленности, эффективная стратегия ротации заквасок базируется на нескольких ключевых принципах: использование разных культур для разных продуктов, создание системы из нескольких ротационных вариантов и наличие резервной культуры на случай чрезвычайной ситуации. Эти подходы, в частности, включают стратегию ротации защитных систем рестрикции-модификации и абортинной инфекции у *L. lactis*. Дополнительное обоснование необходимости ротации представлено в обзорах и подтверждено практикой создания коммерческих фагоальтернативных серий, таких как CH 21.05 Golden Line (для которых разработан определенный план ротации) и протекторных заквасок серии BS (производства Chr. Hansen) для сыров без консервантов [21].

На этой научной основе крупные производители заквасок, такие как DSM, разрабатывают свои коммерческие продукты. Например, концепция ротации используется в линейке культур Dairy Safe™, где представлено несколько вариантов одной закваски,

предназначенных для последовательного применения. DSM также предлагает комплексную платформу управления фагами, включающую тест-набор Delvo®Phage и приложение Delvo®Analytics [21].

Российскими исследователями описан инновационный подход к управлению фагами, основанный на системе ротации заквасок с использованием четырех фагоальтернативных ротаций заквасок для ротации, чтобы сделать систему ротации еще более устойчивой⁵.

Добавление четырех новых ротаций в линейку Dairy Safe™ компании DSM иллюстрирует практическую реализацию стратегии создания устойчивых систем ротации, которая позволяет обеспечить биологическую защиту продуктов без использования консервантов⁶.

На российском рынке в настоящий момент несколько основных производителей бактериальных заквасок. К ним относятся: ООО «Барнаульская биофабрика», ГУП «Угличская экспериментальная биофабрика» (входит в состав ВНИИМС), «Вектор-БиАльгам», «Био Веста», НПО «Бифилайф», ООО «Зеленые линии» (ГК «СоюзСнаб») и цех заквасок ГНУ ВНИМИ. На российском рынке фагоальтернативность реализуется преимущественно через пары моно-видовых и поливидовых концентратов молочнокислых бактерий, которые могут применяться методом прямого внесения (после кратковременной активизации или без нее) или путем приготовления производственной закваски.

Разнообразие видов микроорганизмов в составе закваски – это готовая, встроенная фагозащита, которая гораздо эффективнее, чем рискованная попытка управлять фагами только с помощью частой смены культур [22–25].

Различия в подходах к ротации российских заквасок продиктованы не только исследованиями, но и вполне конкретными производственными преимуществами, которые особенно заметны на отечественных предприятиях. Вопреки распространенному мнению, традиционный метод приготовления заквасок остается востребованным, т. к. дает технологиям ряд важных преимуществ:

⁵Новый подход к расширению линейки биоконсервации сыров // Переработка молока. 2022. № 2(268). С. 18–19. <https://www.elibrary.ru/usbekq>

⁶Дымар, О. В. Производственные закваски. Часть 1. Основные понятия и подходы / О. В. Дымар, Н. П. Сорокина, Т. И. Дымар // Переработка молока. 2024. № 4(294). С. 6–8. <https://elibrary.ru/usbekq>

1. Более быстрый старт ферментации: в отличие от заквасок прямого внесения, когда культуры находятся в замороженном или высушенном состоянии анабиоза и требуют времени на реактивацию, пересадочные (производственные) закваски начинают активно работать в молоке сразу после внесения. Это ускоряет процесс сквашивания и повышает эффективность использования оборудования.

2. Снижение эксплуатационных расходов и рисков: применение пересадочных заквасок существенно снижает и текущие логистические издержки, т. к. не требуется приобретение концентрированных культур за рубежом и регулярная доставка импортных препаратов.

3. Уникальный микробиологический состав: научные школы Углича и Барнаула сохранили и используют уникальные отечественные штаммы молочнокислых бактерий, адаптированные к местному сырью и технологиям. Это особенно важно для производства традиционных российских сыров, где популярный импорт не всегда подходит по своему микробиологическому составу.

4. Технологический суверенитет: в условиях современной экономики и геополитических ограничений развитие собственных компетенций в области пересадочных заквасок – это ключевой элемент долгосрочной стратегии импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности.

Фаговый мониторинг – ключ к эффективной ротации. Никакая ротация не будет работать вслепую. Для своевременной и точной ее корректировки необходим регулярный инструментальный контроль фаговой нагрузки (фаговый мониторинг). Традиционные методы (оценка времени сквашивания, микроскопия) возможны, однако дают запаздывающую информацию. Более современные подходы включают:

Количественная ПЦР (qPCR) и специализированные тест-системы позволяют обнаружить фаги на всех этапах производства, включая допроизводственные этапы, что дает возможность заблаговременно скорректировать план ротации. По данным анализа сыворотки от предыдущей выработки может быть создан эффективный механизм ротации, т. е. систематической смены используемых в производстве видов и партий заквасок.

Другие составляющие стратегии ротации.

Помимо частоты смены партий заквасок, важно соблюдение следующих факторов⁷ [23]:

1. Отсутствие общего фаготипа у ротлируемых культур: они не должны быть чувствительны к одному и тому же фагу. Многоштаммовые стартеры, используемые в рамках ротации, снижают вариабельность закваски и делают сыроделие и производство других ферментированных молочных продуктов более надежным.

2. Поддержание культуры «отдыха»: культура, которую временно вывели из ротации и не используют в производстве в течение 1–3 недель, может «отдохнуть» от фагового давления и затем снова использоваться.

3. Изоляция заквасочного отделения: даже самая частая ротация бесполезна, если заквасочное отделение находится в одном цехе с емкостями для ферментации.

4. Комбинация с санацией: без эффективной мойки оборудования (особенно от биопленок) фаги будут накапливаться несмотря на ротацию.

Сотрудничество молокоперерабатывающего завода и производителя заквасок в области фагового мониторинга позволяет своевременно выявлять уязвимость родительских штаммов к циркулирующим на предприятии фагам. На основе этих данных производитель инициирует процесс создания специфических фагоустойчивых мутантов (BIM), возникающих в бактериальных популяциях в результате естественных или индуцированных мутаций, делающих их невосприимчивыми к заражению. Более того, постоянное пополнение производителем собственных коллекций фагов, изолированных с заводов клиентов, служит основой для целенаправленного подбора фагоальтернативных культур. Это позволяет не просто реагировать на уже произошедший сбой, но и формировать персонифицированные ротационные планы, прогнозируя и предотвращая будущие фаговые атаки.

На основе изложенных данных можно предложить следующий алгоритм, состоящий из семи шагов, который позволит системно управлять фаговой нагрузкой и сделать ротацию эффективным инструментом стабилизации ферментации (табл. 1). Последовательность шагов рекомендуется отработать на каждом предприятии с учетом конкретных условий.

⁷Kleppen, H. P. Studies on bacteriophages infecting...



Источник изображения: taginfo.com

В зависимости от фаговой ситуации на предприятии (благополучная ситуация, наличие риска, высокая фаговая нагрузка и фаголизис закваски) разрабатываются санитарные мероприятия, в соответствии с рекомендациями, приведенными в таблице 2.

ВЫВОДЫ

Таким образом, ротация заквасок – не разовое мероприятие, а непрерывный процесс управления микробным риском. Даже идеально подобранная система ротации не дает 100 % гарантии при отсутствии санитарной изоляции и контроля фаговой нагрузки. Однако в комбинации с мониторингом, гигиеной и правильным выбором заквасок ротация остается самым действенным и экономически оправданным методом предотвращения фаголизиса на молочном производстве. Подтверждением актуальности описанной проблемы служат данные масштабных исследований. По различным оценкам, от 0,1 до 10 % всех процессов ферментации в молочной отрасли завершаются неудачей или задержкой именно из-за бактериофагов [23, 24]. В рамках проекта ECORHAGE (ГК «СОЮЗСНАБ», грант РНФ № 24-14-00181) установлено, что доля ферментаций с нарушенным кислотообразованием, связанных с фагами, может

Таблица 1. Алгоритм действий для молокозавода по контролю бактериофагов и ротации заквасок

Шаг	Действие / пояснение
1. Оценка текущей фаговой ситуации	При отсутствии специального лабораторного оборудования необходимо ориентироваться на косвенные признаки: удлинение времени сквашивания, снижение конечной кислотности, нестабильность pH между партиями
2. Выбор стратегии ротации в зависимости от типа заквасок	Работа по готовым ротационным схемам поставщика. Использование минимум двух основных и одной резервной партий на один ферментируемый продукт. Смена согласно рекомендованной частоте. При первых признаках фаговой атаки необходимо заменить рабочую закваску на фагоальтернативную
3. Недопущение смешивания культур от разных производителей в одной системе ротации без проверки на перекрестную чувствительность	Культуры, не прошедшие тест на отсутствие общего фаготипа, могут оказаться чувствительными к одним и тем же фагам, что приведет к синхронному лизису. Если используются закваски от нескольких поставщиков, необходимо усилить противофаговую дезинфекцию, строго соблюдать изоляцию заквасочного отделения. Регулярный мониторинг методами ПЦР без накопления (безопасны для заводской среды)
4. Внедрение регулярного фагового мониторинга	Не реже 1 раза в 2 мес., а при высокой нагрузке – еженедельно. По возможности использование количественной ПЦР или коммерчески тест-систем. Анализ сыворотки из-под творожного сгустка, молочной сыворотки после отделения, промывных вод оборудования. Отслеживание динамики титров и коррекции ротации. При росте титра фагов выше 10^4 БОЕ/мл необходимо заменить культуру незамедлительно
5. Комбинация ротации и усиления санитарно-гигиенических мер	Фаги накапливаются в биопленках на нержавеющей стали, резиновых уплотнителях, трубах. Необходима тщательная кислотно-щелочная мойка оборудования с использованием средств, разрушающих биопленки. Изоляция заквасочного отделения от основного производства (отдельная вентиляция, герметичные емкости, отдельный инвентарь). Обеззараживание воздуха УФ-лампами или генераторами активного кислорода
6. Обучение персонала принципам фаговой безопасности	Технологи, микробиологи и операторы должны понимать, почему нельзя использовать одну закваску дольше допустимого срока, почему важно соблюдать правила мойки и почему ротация «от разных поставщиков» не работает. Необходимы внутренние аудиты выполнения ротационного графика
7. Документация всех сбоев и успешных ротаций	Ведение журнала: даты смены заквасок, серийные номера партий, результаты фагового мониторинга, случаи замедления кислотообразования. Анализ статистики для оптимизации ротационного графика под условия предприятия

Таблица 2. Алгоритм разработки санитарных мероприятий в зависимости от фаговой ситуации на предприятии [25]

Фаговая ситуация (уровень риска)	Рекомендуемые санитарные мероприятия	Ключевые параметры (биоциды, концентрации, режимы)
1. Благополучная ситуация (фаги не обнаружены или титр < 10 ² БОЕ/мл в контрольных точках)	Плановая профилактическая дезинфекция с ротацией биоцидов. Обработка оборудования (CIP), полов, стен, воздуха	– Надуксусная (пероксиуксусная) кислота 0,15 % при комнатной температуре, экспозиция 1 мин – Частота дезинфекции оборудования: после каждой выработки – УФ-облучение воздуха (265 нм) в присутствии персонала (дозы, допустимые по СанПиН)
2. Наличие риска (титр 10 ² –10 ⁴ БОЕ/мл, фаголизиса нет)	Усиленный режим дезинфекции (повышенная концентрация, увеличенное время контакта, дополнительная обработка)	– Надуксусная (пероксиуксусная) кислота 0,015 % при температуре 40 °С, экспозиция 1 мин – Гидроксид натрия (0,2 % в комбинации с гипохлоритом) при 0,12–0,15 % по дезинфектанту – Поливинилпирролидон-йод (ПВП) 4 % (эффективен против 35 из 36 фагов) – Гипохлорит натрия 0,01–0,03 % в фосфатном буфере (рН 7) для чувствительных фагов – Частота дезинфекции оборудования: после каждой выработки – Ротация биоцидов каждые 1–2 недели для предотвращения адаптации фагов – Обработка воздуха генераторами тумана с надуксусной кислотой 1 раз в 1–2 недели
3. Высокая фаговая нагрузка (титр > 10 ⁴ БОЕ/мл, единичные случаи замедления кислотообразования)	Экстренная санация с использованием комбинированных биоцидов и физических методов.	– Композиционные дезинфектанты (например, Oxi-D: перуксусная кислота 3–7 % + перекись водорода 5–10 % + уксусная кислота) – наиболее эффективный вариант – Гипохлорит натрия 0,2–0,5 % (в присутствии органических веществ – до 3,2 %) – Перкарбонат натрия 0,02–0,05 % (требует длительного контакта 15 мин) – Обработка УФ-С (265 нм) с дозой 17 мДж/см ² (снижение титра фага на 2–5 порядков) – Фотокатализ (УФ + катализатор) – полная инактивация за 60–120 мин – Дезинфекция воздуха генераторами тумана после остановки производства
4. Фаголизис закваски (срыв ферментации)	Каскадная дезинфекция (химическая + физическая + ротация биоцидов) и карантин оборудования	– Удвоение концентрации и времени стандартного биоцида (например, надуксусная кислота до 0,3 % при 40 °С, экспозиция 30 мин) – Последовательная обработка: щелочь (гидроксид натрия 0,5–1 %) → кислота (лимонная или молочная 2,7 %) → окислитель (перуксусная кислота 0,15 %) – Контроль эффективности: снижение титра фагов на ≥ 4 log (по критерию EN) – Обработка помещений с помощью генераторов тумана (биоциды на основе надуксусной кислоты) – УФ-облучение воздуха при отсутствии персонала (высокие дозы, 265 нм, 30–60 мин) – Валидация протоколов на конкретных фагах предприятия

достигать 10 % от общего объема производства на некоторых типах предприятий. В денежном выражении при годовом объеме производства кисломолочной продукции и сыров в странах ЕАЭС, превышающем 10 млн т, потенциальные потери могут исчисляться сотнями тысяч тонн продукции и миллиардами рублей. Эти цифры напрямую обосновывают экономическую целесообразность внедрения описанных выше системных мер, ключевой из которых является грамотная ротация заквасок.

Частота ротации заквасок является критическим фактором, определяющим направление и скорость коэволюции бактерий и фагов. Хотя на практике встречаются рекомендации менять бактериальный концентрат

каждые 2 дня, такая высокая частота ротации биотехнологически нежелательна. Согласно современным представлениям, избыточно частая смена культур стимулирует увеличение разнообразия циркулирующих на предприятии фагов и может провоцировать появление мутантов с расширенным спектром литического действия. Оптимальной стратегией является плановая замена бактериального препарата на фагоальтернативный через 3–7 дней. В сочетании с систематическим фаговым мониторингом (предпочтительно совместно с производителем заквасок) и использованием резервной культуры прямого внесения это позволяет замедлить адаптацию фагов к стартовым культурам и обеспечить условия для более строгого санитарного сопровождения технологического процесса.

Поступила в редакцию: 12.05.2026

Принята в печать: 15.09.2026

STARTER CULTURE ROTATION FOR BACTERIOPHAGE CONTROL IN DAIRY PRODUCTION

Irina S. Polyanskaya

Vologda State Dairy Farming Academy named after N. V. Vereshchagin, Molochnoe

REVIEW ARTICLE

Bacteriophages remain a major cause of fermentation failures in cheese and fermented dairy production. No starter culture, even those with high phage resistance, can be used indefinitely due to the evolutionary plasticity of viruses. Phage monitoring (such as qPCR or the Delvo® Phage test kit) is an essential risk management tool. This article describes how phages overcome bacterial defense systems (receptor modification, CRISPR-Cas evasion, anti-CRISPR proteins, and abortive infection (Abi) systems), providing a scientific rationale for obligatory culture rotation. While Western researchers agree upon flexible rotation schedules, Russian and Belarusian practices stipulate limiting subcultures to 5–7 passages. The article contains practical rotation strategies for both direct vat set (DVS) starters and traditional subcultured starters. It includes recommendations for rotation frequency (ranging from 2–3 days to several weeks), commercial rotation series, and a step-by-step algorithm for dairy plants that covers everything from phage load assessment and rotation strategy selection to sanitation measures and personnel training.

Keywords: bacteriophages, starter cultures, phage resistance, fermentation, abortive infection (Abi)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лапшевич, И. Бактериофаги – невидимый враг молочных продуктов / И. Лапшевич // Молочная промышленность. 2020. № 10. С. 33–35. <https://elibrary.ru/izpseq>
2. Ганина, В. И. Значение бактериофагов в управлении рисками безопасности ферментированных видов молочной продукции / В. И. Ганина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55, № 3. С. 648–658. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>; <https://elibrary.ru/OMIFCY>
3. Манакбаева, А. Н. Бактериофаги: век спустя, снова в центре внимания / А. Н. Манакбаева, П. Г. Алексюк // Микробиология и вирусология. 2023. № 2(41). С. 40–64. <https://doi.org/10.53729/MV-AS.2023.02.03>; <https://elibrary.ru/pgwvbf>
4. Райский, А. П. Идентификация распространенных в Беларуси бактериофагов лактококков / А. П. Райский // Научно-технический вестник Санкт-Петербургского государственного университета информационных технологий, механики и оптики. 2008. № 47. С. 92–96.
5. Grafakou, A. Revisiting lactococcal abortive infection-like antiphage systems: Diversity, structures and mechanisms / A. Grafakou [et al.] // FEMS Microbiology Reviews. 2026. Vol. 50. Art. no. fuag009. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuag009>
6. Leprince, A. CRISPR-Cas in the cheese industry / A. Leprince, S. Moineau // Annual Review of Virology. 2025. Vol. 12(1). P. 491–512. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092623-111016>
7. Chopin, M. C. Phage abortive infection in lactococci: Variations on a theme / M. C. Chopin, A. Chopin, E. Bidnenko // Current Opinion in Microbiology. 2005. Vol. 8. P. 473–479. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.06.006>
8. Barrangou, R. CRISPR: New horizons in phage resistance and strain identification / R. Barrangou, P. Horvath // Annual Review of Food Science and Technology. 2012. Vol. 3. P. 143–162. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101134>
9. Mosterd, C. The great phage escape: Activating and escaping lactococcal antiphage systems / C. Mosterd [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2025. Vol. 122(24). Art. no. e2426508122. <https://doi.org/10.1073/pnas.2426508122>
10. McDonnell, B. Generation of bacteriophage-insensitive mutants of *Streptococcus thermophilus* via an antisense RNA CRISPR-Cas silencing approach / B. McDonnell [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. 2018. Vol. 84(3). Art. no. e01733-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01733-17>
11. Фаткулин, А. А. Сравнительный анализ мишеней спейсеров CRISPR-Cas заквасочных культур / А. А. Фаткулин [и др.] // Acta Naturae. 2024. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.27533>; <https://elibrary.ru/nibubs>
12. Чуксина, Т. А. Характеристика генома двух новых фагов *Lactococcus lactis* phage vL_296 и vL_20A / Т. А. Чуксина [и др.] // Acta Naturae. 2024. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.27468>; <https://elibrary.ru/mphyaa>
13. Nielsen, E. W. Long term use of a cheddar starter and development of phages with homology to its bacteria / E. W. Nielsen // International Dairy Journal. 1998. Vol. 8(12). P. 1003–1009. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00025-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00025-4)
14. Lodics, T. A. Phage-host interactions in commercial mixed-strain dairy starter cultures: Practical significance – a review / T. A. Lodics, L. R. Steenson // Journal of Dairy Science. 1993. Vol. 76(8). P. 2380–2391. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77575-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77575-X)
15. Knecht, L. E. Diversity and function of phage encoded depolymerases / L. E. Knecht, M. Veljkovic, L. Fieseler // Frontiers in Microbiology. 2020. Vol. 10. Art. no. 2949. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02949>
16. Leprince, A. CRISPR-Cas in the cheese industry / A. Leprince, S. Moineau // Annual Review of Virology. 2025. Vol. 12(1). P. 491–512. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092623-111016>
17. Nielsen, E. W. Long term use of a cheddar starter and development of phages with homology to its bacteria / E. W. Nielsen // International Dairy Journal. 1998. Vol. 8(12). P. 1003–1009. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00025-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00025-4)
18. Rousseau, G. M. Evolution of *Lactococcus lactis* phages within a cheese factory / G. M. Rousseau, S. Moineau // Applied and Environmental Microbiology. 2009. Vol. 75(16). P. 5336–5344. <https://doi.org/10.1128/AEM.00761-09>
19. Ганина, В. И. Значение бактериофагов в управлении рисками безопасности ферментированных видов молочной продукции / В. И. Ганина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55, № 3. С. 648–658. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>; <https://elibrary.ru/omifcy>
20. Сорокина, Н. П. Современные тенденции развития заквасочного дела в сыроделии / Н. П. Сорокина, Е. В. Кураева, А. В. Шлак // Технический оппонент. 2025. № 4(20). С. 29–34. <https://elibrary.ru/mapkcz>
21. Mahony, J. Dairy lactococcal and streptococcal phage-host interactions: An industrial perspective in an evolving phage landscape / J. Mahony [et al.] // FEMS Microbiology Reviews. 2020. Vol. 44(6). P. 682–701. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa048>
22. Костюченко, С. В. УФ-технологии для обеззараживания воды, воздуха и поверхностей: принципы и возможности / С. В. Костюченко // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020. № 6(116). С. 112–119. <https://doi.org/10.31631/20733046-2020-19-5-112-119>; <https://elibrary.ru/mhogam>
23. Leshkasheli, L. Efficacy of newly isolated and highly potent bacteriophages in a mouse model of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteraemia / L. Leshkasheli [et al.] // Journal of Global Antimicrobial Resistance. 2019. Vol. 19. P. 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.05.005>
24. Garneau, J. E. Bacteriophages of lactic acid bacteria and their impact on milk fermentations / J. E. Garneau, S. Moineau // Microbial Biotechnology. 2011. Vol. 410(1). Art. no. S20. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-S1-S20>
25. Полянская, И. С. Противофаговая эффективность биоцидов, применяемых на молочных заводах / И. С. Полянская // Молочная промышленность. 2025. № 5. С. 44–58. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2025-5-60>; <https://elibrary.ru/zghshc>