

# Бактериофаги, фаговые полисахарид-деполимеразы и возможности их использования для лечения бактериальных инфекций

Е.В.Комисарова, В.М.Красильникова, Н.В.Воложанцев

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Российская Федерация

Разработка альтернативных способов лечения инфекций, вызванных антибиотикорезистентными бактериями, является одним из приоритетных направлений современной биомедицины. В публикациях по клинической, прикладной и фундаментальной микробиологии последних 10 лет наблюдается повышенный интерес к бактериофагам и их использованию для лечения и профилактики инфекционных заболеваний. Исследование бактериофагов на современном научном уровне способствует обнаружению дополнительных средств для борьбы с патогенными бактериями. Одним из актуальных направлений исследований является изучение фаговых полисахарид-деполимеризующих ферментов, участвующих в стадии адсорбции литических фагов на бактериальных клетках. Изучение механизмов взаимодействия между фагом и бактериальной клеткой на этапе деполимеризации поверхностных полисахаридов позволяет открыть новые возможности как в борьбе с бактериальными патогенами, так и в применении этих знаний в различных направлениях микробиологических технологий.

**Ключевые слова:** бактериофаг, полисахарид-деполимераза, капсульные полисахариды, фаготерапия

**Для цитирования:** Комисарова Е.В., Красильникова В.М., Воложанцев Н.В. Бактериофаги, фаговые полисахарид-деполимеразы и возможности их использования для лечения бактериальных инфекций. Бактериология. 2019; 4(4): 7–14. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-7-14

## Bacteriophages, phage polysaccharide depolymerases and the possibility of their use for the treatment of bacterial infections

E.V.Komisarova, V.M.Krasilnikova, N.V.Volozhantsev

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Russian Federation

The development of alternative methods of treating infections caused by antibiotic-resistant bacteria is one of the priority areas of modern biomedicine. In publications on clinical, applied and fundamental microbiology of the last 10 years, there is an increased interest in bacteriophages and their use for the treatment and prevention of infectious diseases. The study of bacteriophages at the modern scientific level helps to detect additional means to combat pathogenic bacteria. One of the current research directions is the study of phage polysaccharide-depolymerizing enzymes involved in the adsorption of lytic phages on bacterial cells. Studying the mechanisms of interaction between the phage and the bacterial cell at the stage of depolymerization of surface polysaccharides allows us to discover new opportunities both in the fight against bacterial pathogens and in the application of this knowledge in various areas of microbiological technologies.

**Keywords:** bacteriophage, polysaccharide depolymerase, capsular polysaccharides, phage therapy

**For citation:** Komisarova E.V., Krasilnikova V.M., Volozhantsev N.V. Bacteriophages, phage polysaccharide depolymerases and the possibility of their use for the treatment of bacterial infections. Bacteriology. 2019; 4(4): 7–14. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-7-14

### Для корреспонденции:

Воложанцев Николай Валентинович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, п. Оболенск, Московская область, ГНЦ ПМБ

Телефон: (4967) 36-0147

E-mail: nikvol@obolensk.org

Статья поступила 27.11.2019 г., принята к печати 20.12.2019 г.

### For correspondence:

Nikolay V. Volozhantsev, PhD (Biology), leading researcher, laboratory of molecular diagnostics and genetic engineering preparations, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB, Obolensk, 142279, Russian Federation

Phone: (4967) 36-0147

E-mail: nikvol@obolensk.org

The article was received 27.11.2019, accepted for publication 20.12.2019

**Б**актериофаги (фаги) представляют собой вирусы, инфицирующие бактерии. Фаги являются не только самой многочисленной и разнообразной группой вирусов, но и одним из наиболее распространенных биологических объектов на Земле. Фаги убиквитарны в окружающей среде и в изобилии обнаруживаются там, где существуют развитые бактериальные сообщества. Примерами таких ниш могут служить океан, почва, очистные сооружения, горячие источники и живые организмы [1, 2].

Бактериофаги, как и прочие вирусы, являются самореплицирующимися облигатными паразитами. При нахождении во внеклеточной среде они обычно биохимически инертны. Эти вирусы представляют собой частицы, содержащие нуклеиновую кислоту (ДНК либо РНК), которая кодирует информацию, необходимую для их репликации. Вирусные геномы являются либо кольцевыми, либо линейными, одно- или двухцепочечными. Размер генома фагов варьирует от ~3,3 тыс. нуклеотидов (оцРНК фагов *Escherichia coli*) [3] до почти 500 тыс. п.н. (бактериофаг G, инфицирующий *Bacillus megaterium*) [4].

Одной из самых ярких особенностей генома бактериофагов является «мозаичность», обусловленная горизонтальным переносом генов [5]. По сути, каждый фаговый геном можно рассматривать как уникальное сочетание модулей, которыми фаги могут обмениваться внутри популяции. Размер модулей и уровень их конверсии сильно отличается среди фагов с различной морфологией, размером и кругом хозяев [6]. Число фаговых геномов, доступных для сравнительного анализа, постоянно растет, и степень их мозаичности становится все более очевидной и поразительной.

Популяция фагов представляет собой обширный резервуар неисследованного генетического разнообразия, поскольку до 80% генов, содержащихся в фаговых геномах, кодирует гипотетические протеины, функции которых не известны. Мозаичная структура генома фагов обеспечивает высокий уровень их адаптивности и, как следствие, эволюционный успех. В естественных местах обитания фаги и бактерии находятся в постоянной «гонке вооружений», выражающейся в непрерывных циклах коэволюции. Бактериальные клетки обладают множеством различных систем защиты от фаговой инфекции [7, 8]. В свою очередь, фаги способны противостоять данным механизмам устойчивости за счет пластичности генома и высокой скорости воспроизведения [9, 10].

Каждый фаг специфичен для конкретного бактериального хозяина и может иметь узкий или широкий диапазон хозяев в зависимости от его способности к инфицированию. Клетка-хозяин обеспечивает ферментативный аппарат для репликации фагов и их размножения [11]. Жизненный цикл фага может проходить по двум направлениям: литическому и лизогенному. При реализации литического пути фаг вводит нуклеиновую кислоту в клетку и размножается путем подчинения ее репликативного аппарата. После этапа сборки вирусных частиц фаговое потомство разрушает клетку, обеспечивая себе выход в окружающую среду. Лизогенный путь подразумевает интеграцию и дальнейшую репликацию фагового генетического материала в составе бактериального генома. При таком варианте бактериофаг может либо неограниченное время находиться в геноме бактерии и пе-

редаваться при делении клетки следующему поколению, либо выщепляться из генома и размножаться по литическому пути [12].

Различные сценарии взаимодействия между фагом и бактериальной клеткой играют важную роль в биогеохимических циклах, регуляции структур микробных сообществ и управлении микробными популяциями. Например, заражение бактериальной клетки лизогенным фагом может способствовать увеличению микробного разнообразия в результате горизонтального переноса генов [13]. Литическая фаговая инфекция приводит к лизису клетки-хозяина и, как следствие, обеспечивает контроль популяции клеток [14]. Бактериальный дебрис, образующийся в результате лизиса, поступает в пищевую сеть и биогеохимические циклы, в результате чего происходит рециркуляция питательных веществ в экосистеме [13].

### **Хвостатые бактериофаги порядка *Caudovirales***

Среди всех бактериальных вирусов фаги порядка *Caudovirales* (от лат. cauda – хвост) являются самыми распространенными [13]. Считается, что хвостатые фаги возникли в раннюю докембрийскую эру и, скорее всего, эволюционировали от общего предка [15]. По различным оценкам, количество отдельных вирионов хвостатых фагов на Земле составляет более  $10^{30}$  [16]. В водных экосистемах, где доминируют бактерии, подавляющее большинство вирусоподобных частиц напоминает хвостатые фаги [16]. По данным Ackermann и Prangishvili (2012), более 90% из 6200 фагов, исследованных с помощью электронной микроскопии, представляют собой фаги порядка *Caudovirales* [17]. В настоящее время каудовирусы являются наиболее изученными вирусами бактерий. Среди всех секвенированных фаговых геномов более 95% представлено геномами хвостатых фагов.

Бактериофаги порядка *Caudovirales* чрезвычайно разнообразны, но, тем не менее, объединены двумя характерными чертами: все они имеют хвостовые отростки и используют общий механизм упаковки ДНК в капсид [18]. На основании морфологии хвостового отростка представители порядка *Caudovirales* подразделяются на три семейства – *Myoviridae* (длинный сокращающийся хвост), *Siphoviridae* (длинный несокращающийся хвост) и *Podoviridae* (короткий несокращающийся хвост). В 2017 г. Подкомитет по вирусам бактерий и архей ICTV анонсировал появление нового семейства хвостатых бактериофагов, сформированное на основании анализа данных полногеномного секвенирования бактериофагов и названное в честь Ханса-Вольфганга Аккерманна – *Ackermannviridae* [19].

Геном бактериофагов порядка *Caudovirales* представлен одной несегментированной линейной молекулой дцДНК, которая иногда может приобретать кольцевую форму. Геном может содержать от 12 до 500 тыс. п. н., кодирующих структурные, регуляторные и ферментативные белки (Brüssow, 2002). Геном упакован в изометрический икосаэдрический капсид, к одной из вершин которого прикреплен хвостовой отросток [20].

С резким увеличением числа охарактеризованных хвостатых фагов становится все более очевидным, что порядок *Caudovirales* больше не способен объединять огромное гене-

тическое разнообразие данной вирусной группы [21] и должен быть надлежащим образом реорганизован. Проблемы таксономии порядка *Caudovirales* побудили ICTV изучить возможность введения дополнительных таксономических уровней. Первоначальные идеи и планы были представлены на конференции Европейской организации молекулярной биологии (European Molecular Biology Organization, EMBO) 2016 г. «Вирусы микробов IV» (Ливерпуль, Великобритания). В настоящее время Подкомитет по бактериальным и архейным вирусам изучает согласованность порядка *Caudovirales* на примере группы разнообразных фагов, которые классифицированы как представители подсемейства *Spounavirinae* [22].

Взаимодействие литического бактериофага и бактериальной клетки является многостадийным процессом: сначала происходит адсорбция бактериофага на поверхности бактериальной клетки, затем введение нуклеиновой кислоты фага в клетку, внутриклеточный синтез компонентов фага и его сборка и, наконец, лизис бактериальной клетки с высвобождением новых фаговых частиц.

Хвостовые отростки являются высокоспецифичными системами для распознавания клетки-хозяина и используются фагами для прикрепления к поверхности бактерии. Структурный состав хвостового отростка может варьировать от единичного хвостового шипа до более сложного комплекса, включающего базальную пластинку с дополнительными элементами в виде хвостовых волокон (tail-fiber) и хвостовых шипов (tail-spike) [20]. Гены, кодирующие структурные элементы хвостового отростка, являются наиболее варибельной частью фагового генома [6]. Хвостовые белки фагов разнообразны и способны распознавать почти каждый компонент поверхности клетки хозяина, включая белки, полисахариды (ПС) и липополисахариды (ЛПС) [23].

Процесс адсорбции бактериофага на поверхности бактериальной клетки включает два этапа: обратимое и необратимое связывание. Следует уточнить, что молекулярные механизмы обоих этапов могут существенно различаться для различных систем «фаг–бактериальная клетка», а также варьировать среди представителей различных таксономических групп фагов и их бактериальных хозяев. Способность бактериофага инфицировать ограниченный круг хозяев продиктована спецификой адсорбционного процесса, зависящего от природы и структурных особенностей рецепторов на поверхности бактериальной клетки. Важную роль играет локализация, количество и плотность рецепторов на различных участках клеточной поверхности. Природа рецепторов различна для разных представителей таксономических групп бактерий и в основном определяется составом клеточной стенки и поверхностными структурами [24].

Как известно, структуры клеточной стенки грамотрицательных и грамположительных бактерий значительно отличаются. Два основных отличия: высокая проницаемость за счет большого количества интегральных белков, формирующих каналы (более 20 тыс. на клетку) [25], и наличие внешнего липополисахаридного слоя. Белки, локализованные на мембране бактериальной клетки, а также различные участки ЛПС могут служить в качестве рецепторов для бактериофагов. В большинстве случаев фаги требуют наличия двух типов рецепторов [24]. Некоторые бактерии экранируют ре-

цепторы за счет синтеза углеводных барьеров, прилегающих к клетке – капсульных полисахаридов (КПС) или слизистых экстраклеточных полисахаридов (ЭПС) [26]. КПС и ЭПС отличаются огромным разнообразием в своем составе не только среди бактерий одного рода, но и внутри вида. Кроме того, их состав может варьировать в зависимости от условий культивирования бактерий [27]. Капсула обычно играет роль первичного рецептора на начальном этапе присоединения бактериофага (стадия обратимой адсорбции), в то время как белки и ЛПС чаще всего обеспечивают необратимую адсорбцию бактериофага [27].

Для преодоления углеводного барьера бактерий фаги используют полисахарид-деградирующие ферменты, которые распознают, связывают и расщепляют полисахаридные соединения, обеспечивая доступ к первоначально недоступному рецептору клеточной поверхности бактерий [27]. Визуально это проявляется как особенность морфологии негативных колоний (НК) бактериофагов, лизирующих инкапсулированные штаммы бактерий, – вокруг НК образуется ореол (halo), увеличивающийся в диаметре при инкубации, в то время как размер НК остается постоянным. Этот морфологический признак, формирующийся за счет действия фаговых ПС-деполимераз, впервые был описан V.Sertic в 1929 г. [28]. S.Humphries (1948) первым выделил подобный фермент при работе с клебсиеллезным бактериофагом MA8 [29].

#### Фаговые полисахарид-деполимеразы

В результате тесной коэволюции бактериофагов и их бактерий-хозяев сформировалось большое разнообразие полисахаридных компонентов клеточных стенок бактерий. Это подразумевает наличие у фагов такого же разнообразия структурных элементов, обеспечивающих первичное взаимодействие с бактериальной клеткой. Именно в генах фагов, кодирующих рецептор-связывающие белки (в т.ч. ПС-деполимеразы), наблюдается наивысший уровень разнообразия и мозаичности, что отражает влияние интенсивного вертикального и горизонтального переноса генов на эволюцию этих структур [30].

Несмотря на большое разнообразие ферментативной специфичности, ПС-деполимеразы имеют общие структурные особенности. Они являются фибриллярными белками с параллельной  $\beta$ -складчатой топологией [31] и, как правило, образуют удлинённые гомотримеры, по форме напоминающие шип. Такая конфигурация позволяет расширить активный сайт для распознавания и связывания рецепторов, скрытых в поверхностных полисахаридах. Однако существуют исключения – эндосиалидаза, кодируемая сифофагом *E. coli* 63D, является гомотетрамером [32].

Сложная  $\beta$ -складчатая структура определяет специфичность и стабильность ПС-деполимераз. Высокий уровень стабильности соответствует жестким внешним условиям, которые эти белки должны выдерживать в различных средах, чтобы противостоять денатурирующим агентам [33, 34].

Общая архитектура ПС-деполимераз чаще всего включает три домена: N-концевой, центральный и C-концевой. Небольшой N-концевой домен обеспечивает присоединение ПС-деполимеразы к хвостовым структурам бактериофага. Рядом исследований показано, что N-концевой домен не

требуется для правильной сборки и ферментативной активности ПС-деполимеразы [35]. Крупный центральный домен является ключевым для распознавания бактериальной клетки, а также обладает ферментативной активностью. С-концевой домен ответственен за тримеризацию белка и в основном работает как внутримолекулярный шаперон. Многие исследователи считают, что С-концевой домен ответственен также за распознавание клеточного рецептора [31, 34]. N-концевой, а также С-концевой домены ПС-деполимераз консервативны среди фагов, принадлежащих к одной таксономической группе, в то время как специфичный для клетки-хозяина центральный домен является вариабельным, обеспечивая тем самым изменение диапазона хозяев или адаптацию к новой среде [36].

Подавляющее большинство фаговых ПС-деполимераз входит в состав структурных компонентов фаговой частицы – в основном это белки хвостового аппарата [37], реже – белки волокнистых структур коннектора, соединяющего хвостовой отросток и капсид [38]. Связанные с вирионами ПС-деполимеразы необходимы на этапе первичного взаимодействия фагов с бактериальными клетками, окруженными КПС и/или ЭПС.

По механизму ферментативного действия фаговые ПС-деполимеразы разделяются на два основных класса – гидролазы (КФ3) и лиазы (КФ4). Оба класса ферментов расщепляют полисахариды на растворимые олигосахариды, что приводит к разрушению углеводного барьера бактериальной клетки. Большинство гидролаз принадлежит к группе О-гликозил-гидролаз, которые используют молекулу воды для расщепления О-гликозидных связей в молекулах полисахаридов. Эта группа объединяет сиалидазы (нейраминидазы) [39], рамнозидазы [40], леваназы, ксиланазы и декстраназы [37]. ПС-деполимеразы, принадлежащие к классу лиаз, расщепляют гликозидную связь по механизму β-элиминации с сопутствующим образованием двойной связи без использования молекулы воды. Эта группа объединяет гиалуронидазы [41], пектат/пектин-лиазы [33], альгинат-лиазы [42] и специфическую К5-лиазу [43].

### **Использование бактериофагов и фаговых ферментов для контроля бактериальных инфекций**

Благодаря энтузиазму Феликса Д'Эрелля бактериофаги практически сразу после обнаружения стали использоваться в терапевтических целях. В первых опытах, проведенных Д'Эреллем на себе, бактериофаги показали себя как весьма перспективное средство для борьбы с инфекционными заболеваниями. Первая фаготерапия людей была предпринята Д'Эреллем в 1919 г. [44], а первый отчет о клиническом применении бактериофагов был опубликован в 1921 г. [45]. Несмотря на многообещающие успехи первых испытаний бактериофагов, плохой контроль исследований и противоречивые результаты породили в научном сообществе разногласия относительно эффективности фаготерапии в отношении бактериальных инфекций [46]. Исследования проводились по схемам, не соответствующим принятым на сегодня протоколам клинических испытаний, а также не были должным образом документированы и описаны в научной литературе. С появлением антибиотиков интерес к фагам на Западе был утрачен [47], исследования по фаготерапии,

проводимые западными специалистами, были приостановлены. Тем не менее в Советском союзе и некоторых странах Восточной Европы исследования по фаготерапии не прекращались [48–51].

Антибиотики, безусловно, способствовали значительному успеху в лечении инфекционных заболеваний и улучшении здоровья человека, но к концу XX века «золотая эра» открытия новых антибактериальных веществ закончилась, и современные исследователи сосредоточились на модификации существующих препаратов [52]. Появление множества устойчивых бактерий сделало большинство антимикробных препаратов малоэффективными. Возникшая ситуация усугубляется в связи с бесконтрольным потреблением антибиотиков, особенно в странах БРИКС (Бразилия, Россия, Индия, Китай, ЮАР) [53]. Эти проблемы способствовали возрождению интереса к изучению бактериофагов и возможности их использования в качестве антибактериальных препаратов [54]. В многочисленных исследованиях было подтверждено, что бактериофаги обладают противомикробным потенциалом в отношении множественно устойчивых бактерий как *in vitro* [55, 56], так и *in vivo* [57, 58].

В контексте оценки положительных и отрицательных сторон применения бактериофагов в терапии инфекционных заболеваний самым противоречивым свойством фагов является высокая степень специфичности к определенным видам или штаммам бактерий. С одной стороны, это свойство обеспечивает положительный эффект фаготерапии – бактериофаги, в отличие от антибиотиков, меньше воздействуют на нормофлору [59]. С другой стороны, оно же является лимитирующим фактором – один тип фага не может инфицировать все штаммы бактерий в пределах вида. Поэтому для элиминации широкого спектра бактерий требуются «коктейли» из нескольких типов фагов. Одним из очевидных минусов фаготерапии является единовременный массивный лизис бактерий и высвобождение их компонентов, что может привести к нежелательным иммунным реакциям [60]. Не стоит также забывать о том, что бактерии постоянно вырабатывают механизмы резистентности к инфицированию фагами [7, 8] – преодоление этого ограничения возможно благодаря целенаправленной генетической модификации бактериофагов [61]. Постоянный рост баз данных нуклеотидных последовательностей фаговых геномов, исследования структурных особенностей фагов, а также взаимодействия фагов и бактерий способствуют созданию модифицированных фагов и их компонентов [4, 40]. Следует упомянуть, что такие свойства бактериофагов, как самовоспроизводимость, относительная легкость и быстрота процесса их производства являются несомненными преимуществами по сравнению с антибактериальными химиопрепаратами [59]. Однако ввиду высокого разнообразия структуры, жизненного цикла и способа организации генома фагов серьезной проблемой представляется получение одобрения регуляторных органов для применения препаратов бактериофагов в клинической практике [59, 62].

Тем не менее медицинские продукты на основе фагов постепенно получают все большее признание. В рамках проекта «PhagoBurn» семь медицинских центров Франции, Бельгии и Швейцарии проводят клинические испытания, призванные оценить эффективность местного применения

специализированного коктейля бактериофагов для профилактики и терапии инфекций, вызванных *E. coli* и *Pseudomonas aeruginosa* у пациентов с ожогами. При применении данного коктейля не было выявлено никаких побочных эффектов или осложнений [63]. Также не было обнаружено побочных эффектов приема фага T4 в исследовании по оценке безопасности фаговой терапии, описанном Bruttin и Brüssow (2005), в котором 15 здоровых волонтеров принимали фаг перорально [64]. Об испытаниях собственных оригинальных коктейлей фагов для лечения широкого спектра заболеваний сообщает ряд американских фирм (Intralytix, Enbiotix, AmpliPhi) [65, 66].

Самое масштабное на сегодня производство бактериофагов для применения в медицине располагается в Российской Федерации. Широкий спектр фаговых препаратов выпускает АО «НПО Микроген» (<http://www.bacteriophage.ru/>). Терапевтические бактериофаги производятся также в Международном центре фаготерапии им. Г.Элиавы (Тбилиси, Грузия), где расположено не только промышленное производство, но и клиника с обширной коллекцией бактериофагов (<http://www.eliava-institute.org/>). В рамках программы медицинского туризма с этим центром сотрудничают клиники стран Европы и США. В Центре фаготерапии при Институте иммунологии и экспериментальной терапии Польской академии наук препараты бактериофагов разрабатываются для экспериментального клинического применения (<https://www.iitd.pan.wroc.pl/en/OTF/>). Например, исследования по использованию бактериофагов против бактерий рода *Klebsiella* в Польше показали, что фаготерапия может быть успешно применена при лечении септических [67] и кожных инфекций [68], а также цереброспинального менингита [69], этиологическим агентом которых являлась *K. pneumoniae*.

Достижения в области молекулярной биологии, лучшее понимание биологии и генетики бактериофагов позволило раскрыть их потенциал не только при лечении инфекционных заболеваний человека, но и в других областях клинической и эпидемиологической деятельности. Бактериофаги используются для детекции и типирования бактерий [70], дезинфекции медицинских изделий, контроля инфекций животных и растений [71], обеззараживания пищевых продуктов [72]. Разработаны несколько препаратов на основе природных фагов, одобренных для обеззараживания пищевых продуктов, – это такие препараты, как ListShield, EcoShield и SalmoFresh (компания Intralytix, США), созданные для контроля соответствующих патогенных бактерий – *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 и *Salmonella enterica* в продуктах питания или на объектах пищевой промышленности (<http://www.intralytix.com/index.php?page=prod>). Препарат AgriPhage от компании OmniLytics (США) выявляет наличие *Xanthomonas campestris* и *Pseudomonas syringae* на овощах (<http://www.omnilytics.com/>). Препарат Listex P100 от компании Micreos (Нидерланды) снижает обсемененность пищевых продуктов листериями [73].

Относительно недавно в качестве самостоятельных антимикробных препаратов предложены различные фаговые ферменты [74, 75]. Например, фаговые эндолизины – ферменты, необходимые для расщепления клеточной стенки бактерий. Эндолизины успешно прошли испытания на раз-

личных моделях животных, показав ряд преимуществ по сравнению с антибиотиками при лечении экспериментальных инфекций, вызываемых грамположительными бактериями, устойчивыми к антимикробным препаратам [74].

Другая перспективная группа фаговых ферментов – ПС-деполимеразы с их уникальной способностью специфически распознавать и расщеплять КПС и ЭПС бактерий. Большинство этих белков, в отличие от фаговых эндолизинов, не обладают бактерицидной активностью, но, тем не менее, рассматриваются как потенциальное средство для снижения вирулентных свойств бактерий [33]. Потеря или нарушение поверхностных структур, используемых многими патогенами для повышения степени вирулентности, колонизации и формирования биопленки, делает бактерии менее вирулентными и/или чувствительными к антимикробным препаратам и к факторам защиты организма хозяина (фагоцитоз или действие системы комплемента) [75, 76]. Терапевтическая эффективность рекомбинантных ПС-деполимераз, которые только модифицируют фенотип бактериальных клеток, не влияя на их жизнеспособность и скорость роста, была подтверждена на лабораторных моделях *in vivo* [33, 75, 76].

Интенсивные исследования, проводимые в настоящее время различными группами, сосредоточены на перспективах применения ПС-деполимераз, выделяемых бактериофагами *Klebsiella* [77–79]. Hsu et al. (2013) сообщают об идентификации KN2-специфического фага и его ПС-деполимеразы, которая может быть использована для лечения инфекций *K. pneumoniae*, а также для капсульного типирования [39]. В исследовании Lin et al. (2014) был выделен и охарактеризован бактериофаг NTUH-K2044-K1-1, специфически лизирующий штаммы *K. pneumoniae* капсульного типа K1, а также клонирован ген, кодирующий ПС-деполимеразу. Авторы продемонстрировали возможность использования фага и рекомбинантной ПС-деполимеразы для диагностики и лечения инфекций, вызванных *K. pneumoniae* K1-типа [80]. Majkowska-Skrobek et al. (2016) идентифицировали и охарактеризовали ПС-деполимеразу бактериофага KP36. Они обнаружили, что ПС-деполимераза эффективна против нативной капсулы клинических штаммов *K. pneumoniae* K63-типа и снижает уровень смертности личинок *Galleria mellonella*, инфицированных *K. pneumoniae*. Исследователи идентифицируют данную ПС-деполимеразу как подходящее средство для разработки новых методов лечения инфекций, вызванных *K. pneumoniae* [33]. Hsieh et al. (2017) сообщают о выделении фаговых ПС-деполимераз, специфичных для капсульных типов K30/K69, K8 или K5 и о перспективе использования их для типирования и лечения инфекции *K. pneumoniae* [81]. Также сравнительно недавно Pan et al. (2017) описали бактериофаг ФК64–1, способный размножаться на широком спектре штаммов *Klebsiella* – представителей 10 капсульных типов и обладающих 11 типами ПС-деполимераз. Каждая из ПС-деполимераз имеет активность, специфичную для полисахаридов капсульных типов K1, K11, K21, K25, K30/K69, K35, K64, KN4 или KN5 [82].

Зарубежными исследователями показано, что применение сочетаний «бактериофаг, обладающий ПС-деполимеразной активностью / антибиотик» или «рекомбинантная фаговая

ПС-деполимераза / антибиотик» эффективно подавляет клебсиеллезные инфекции [78, 79, 83]. Рекомбинантные ПС-деполимеразы также можно использовать в диагностических целях. Hsu et al. (2013) и Lin et al. (2014) высказывают предположение о том, что высокая специфичность ПС-деполимераз позволит сделать капсульное типирование штаммов *K. pneumoniae* более эффективным по сравнению с фаготипированием [39, 80].

### Заключение

В качестве альтернативы антибактериальным препаратам все чаще предлагаются бактериофаги – вирусы, инфицирующие бактерии. Бактериофаги имеют ряд преимуществ по сравнению с антибиотиками (например, узконаправленное действие), однако не лишены и недостатков. Несмотря на неоднозначный опыт прошлых лет, современные технологии позволяют эффективно реорганизовать классическую фаготерапию. Мы можем быстрее и эффективнее подбирать бактериофаги, можем характеризовать их с точки зрения генома – это дает возможность избежать таких нежелательных компонентов фагового генома, как гены вирулентности или резистентности, а также гены, кодирующие образование токсинов.

Использование современных технологий позволяет более подробно исследовать возможности фаготерапии. Изучение тонкой структуры бактериофагов, механизмов их взаимодействия с бактериальной клеткой может открыть новые возможности в поиске альтернативных противомикробных агентов. Одно из наиболее актуальных направлений – изучение ферментов, используемых фагами в процессе адсорбции на поверхности бактериальной клетки. ПС-деполимеразы необходимы бактериофагу для разрушения полисахаридного слоя, экранирующего рецепторы клеточной стенки бактерий, и последующего взаимодействия с бактериальной клеткой. Бактериофаги, обладающие ПС-деполимеразой, – идеальные кандидаты для борьбы с капсулообразующими бактериями. Эти ферменты эффективно расщепляют полисахаридный слой бактерий, существенно снижая их устойчивость к действию защитных сил иммунной системы макроорганизма.

Исследования фаговых ПС-деполимераз показывают, что они могут применяться в комбинации с противомикробными препаратами против резистентных патогенов, особенно тех, которые входят в состав биопленок. Помимо борьбы с бактериальными инфекциями, ПС-деполимеразы могут быть использованы в качестве альтернативы антисыворотке для типирования бактериальных штаммов и обнаружения полисахаридов в иммуногистологических исследованиях. Высокая специфичность ПС-деполимераз позволяет высказывать предположение о том, что капсульное типирование на основе этих ферментов может быть более эффективным, чем фаготипирование.

### Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора и гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2019-1671 от 31 октября 2019 г.).

### Литература/References

1. Prigent M, Leroy M, Confalonieri F, Dutertre M, DuBow MS. A diversity of bacteriophage forms and genomes can be isolated from the surface sands of the Sahara Desert. *Extremophiles*. 2005 Aug;9(4):289-96. DOI: 10.1007/s00792-005-0444-5
2. Srinivasiah S, Bhavsar J, Thapar K, Liles M, Schoenfeld T, Wommack KE. Phages across the biosphere: contrasts of viruses in soil and aquatic environments. *Res Microbiol*. 2008 Jun;159(5):349-57. DOI: 10.1016/j.resmic.2008.04.010
3. Friedman SD, Genthner FJ, Gentry J, Sobsey MD, Vinjé J. Gene mapping and phylogenetic analysis of the complete genome from 30 single-stranded RNA male-specific coliphages (family *Leviviridae*). *J Virol*. 2009 Nov;83(21):11233-43. DOI: 10.1128/JVI.01308-09
4. Hatfull GF, Hendrix RW. Bacteriophages and their genomes. *Curr Opin Virol*. 2011 Oct;1(4):298-303. DOI: 10.1016/j.coviro.2011.06.009
5. Pedulla ML, Ford ME, Houtz JM, Karthikeyan T, Wadsworth C, Lewis JA, et al. Origins of highly mosaic mycobacteriophage genomes. *Cell*. 2003 Apr 18;113(2):171-82. DOI: 10.1016/s0092-8674(03)00233-2
6. Hendrix RW, Smith MC, Burns RN, Ford ME, Hatfull GF. Evolutionary relationships among diverse bacteriophages and prophages: all the world's a phage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Mar 2;96(5):2192-7. DOI: 10.1073/pnas.96.5.2192
7. Deveau H, Garneau JE, Moineau S. CRISPR/Cas system and its role in phage-bacteria interactions. *Annu Rev Microbiol*. 2010;64:475-93. DOI: 10.1146/annurev.micro.112408.134123
8. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol*. 2010 May;8(5):317-27. DOI: 10.1038/nrmicro2315
9. McMahon SA, Roberts GA, Johnson KA, Cooper LP, Liu H, White JH, et al. Extensive DNA mimicry by the ArdA anti-restriction protein and its role in the spread of antibiotic resistance. *Nucleic Acids Res*. 2009 Aug;37(15):4887-97. DOI: 10.1093/nar/gkp478
10. Zhu H, Yin S, Shuman S. Characterization of polynucleotide kinase/phosphatase enzymes from Mycobacterio phages omega and Cjw1 and vibriophage KVP40. *J Biol Chem*. 2004 Jun 18;279(25):26358-69. DOI: 10.1074/jbc.M403200200
11. Rodrigue S, Malmstrom RR, Berlin AM, Birren BW, Henn MR, Chisholm SW. Whole genome amplification and *de novo* assembly of single bacterial cells. *PLoS One*. 2009 Sep 2;4(9):e6864. DOI: 10.1371/journal.pone.0006864
12. Bertani G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1951 Sep;62(3):293-300.
13. Weinbauer MG, Rassoulzadegan F. Are viruses driving microbial diversification and diversity? *Environ Microbiol*. 2004 Jan;6(1):1-11. DOI: 10.1046/j.1462-2920.2003.00539.x
14. Parmar KM, Hathi ZJ, Dafale NA. Control of Multidrug-Resistant Gene Flow in the Environment Through Bacteriophage Intervention. *Appl Biochem Biotechnol*. 2017 Mar;181(3):1007-1029. DOI: 10.1007/s12010-016-2265-7
15. Ackermann HW. Tailed bacteriophages: the order caudovirales. *Adv Virus Res*. 1998;51:135-201. DOI: 10.1016/s0065-3527(08)60785-x
16. Wommack KE, Colwell RR. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000 Mar;64(1):69-114. DOI: 10.1128/mmb.64.1.69-114.2000
17. Ackermann HW, Prangishvili D. Prokaryote viruses studied by electron microscopy. *Arch Virol*. 2012 Oct;157(10):1843-9. DOI: 10.1007/s00705-012-1383-y
18. Catalano C. Viral genome packaging machines: genetics, structure, and mechanism: Springer, 2005 edition.
19. Adriaenssens EM, Wittmann J, Kuhn JH, Turner D, Sullivan MB, Dutilh BE, et al. Taxonomy of prokaryotic viruses: 2017 update from the ICTV Bacterial and Archaeal Viruses Subcommittee. *Arch Virol*. 2018 Apr;163(4):1125-1129. DOI: 10.1007/s00705-018-3723-z
20. Fokine A, Rossmann MG. Molecular architecture of tailed double-stranded DNA phages. *Bacteriophage*. 2014 Jan 1;4(1):e28281. DOI: 10.4161/bact.28281

21. Iranzo J, Krupovic M, Koonin EV. The Double-Stranded DNA Virosphere as a Modular Hierarchical Network of Gene Sharing. *mBio*. 2016 Aug 2;7(4). pii: e00978-16. DOI: 10.1128/mBio.00978-16
22. Barylski J, Nowicki G, Goździcka-Józefiak A. The discovery of phiAGATE, a novel phage infecting *Bacillus pumilus*, leads to new insights into the phylogeny of the subfamily *Spounavirinae*. *PLoS One*. 2014 Jan 23;9(1):e86632. DOI: 10.1371/journal.pone.0086632
23. Lindberg AA. Bacteriophage receptors. *Annu Rev Microbiol*. 1973;27:205-41. DOI: 10.1146/annurev.mi.27.100173.001225
24. Летаров АВ, Куликов ЕЕ. Адсорбция бактериофагов на клетках бактерий. *Успехи биологической химии*. 2017;57:153-208. / Letarov AV, Kulikov EE. Adsorbtsiya bakteriofagov na kletkakh bakterii. *Uspekhi biologicheskoi khimii*. 2017;57:153-208. (In Russian).
25. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003 Dec;67(4):593-656. DOI: 10.1128/mmr.67.4.593-656.2003
26. Schmid J, Sieber V, Rehm B. Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies. *Front Microbiol*. 2015 May 26;6:496. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00496
27. Leiman PG, Molineux IJ. Evolution of a new enzyme activity from the same motif fold. *Mol Microbiol*. 2008 Jul;69(2):287-90. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06241.x
28. Sertic V. Untersuchungen iiber einen Lysinonen bildenden Bakteriophagen. *Zentralblatt Fur Bakteriologie, Mikrobiologie, Und Hygiene*. 1929;110:125-139.
29. Humphries, S. Enzymatic activity of bacteriophage-culture lysates I. A capsule lysine active against *Klebsiella pneumoniae* type A. *Journal of Bacteriology*. 1948;56:683.
30. Casjens SR, Molineux IJ. Short noncontractile tail machines: adsorption and DNA delivery by podoviruses. *Adv Exp Med Biol*. 2012;726:143-79. DOI: 10.1007/978-1-4614-0980-9\_7
31. Weigle PR, Scanlon E, King J. Homotrimeric, beta-stranded viral adhesins and tail proteins. *J Bacteriol*. 2003 Jul;185(14):4022-30. DOI: 10.1128/jb.185.14.4022-4030.2003
32. Machida Y, Miyake K, Hattori K, Yamamoto S, Kawase M, Iijima S. Structure and function of a novel coliphage-associated sialidase. *FEMS Microbiol Lett*. 2000 Jan 15;182(2):333-7. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb08917.x
33. Majkowska-Skropek G, Łątka A, Berisio R, Maciejewska B, Squeglia F, Romano M. Capsule-targeting depolymerase, derived from *Klebsiella* KP36 phage, as a tool for the development of anti-virulent strategy. *Viruses*. 2016 Dec 1;8(12). pii: E324. DOI: 10.3390/v8120324
34. Yan J, Mao J, Xie J. Bacteriophage polysaccharide depolymerases and biomedical applications *BioDrugs*. 2014 Jun;28(3):265-74. DOI: 10.1007/s40259-013-0081-y
35. Stummeyer K, Schwarzer D, Claus H, Vogel U, Gerardy-Schahn R, Mühlenhoff M. Evolution of bacteriophages infecting encapsulated bacteria: lessons from *Escherichia coli* K1-specific phages. *Mol Microbiol*. 2006 Jun;60(5):1123-35.
36. Yan JJ, Zheng PX, Wang MC, Tsai SH, Wang LR, Wu JJ. Allocation of *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates into four distinct groups by ompK36 typing in a Taiwanese university hospital. *J Clin Microbiol*. 2015 Oct;53(10):3256-63. DOI: 10.1128/JCM.01152-15
37. Pires DP, Oliveira H, Melo LD, Sillankorva S, Azeredo J. Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016 Mar;100(5):2141-51. DOI: 10.1007/s00253-015-7247-0
38. Gutiérrez D, Briers Y, Rodríguez-Rubio L, Martínez B, Rodríguez A, Lavigne R, García P. Role of the pre-neck appendage protein (Dpo7) from phage vB\_SepiS-phiPLA7 as an anti-biofilm agent in Staphylococcal species. *Front Microbiol*. 2015 Nov 25;6:1315. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01315
39. Hsu CR, Lin TL, Pan YJ, Hsieh PF, Wang JT. Isolation of a bacteriophage specific for a new capsular type of *Klebsiella pneumoniae* and characterization of its polysaccharide depolymerase. *PLoS One*. 2013 Aug 2;8(8):e70092. DOI: 10.1371/journal.pone.0070092
40. Barbir S, Müller JJ, Uetrecht C, Clark AJ, Heinemann U, Seckler R. Crystal structure of *Escherichia coli* phage HK620 tailspike: podoviral tailspike endoglycosidase modules are evolutionarily related. *Mol Microbiol*. 2008 Jul;69(2):303-16. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06311.x
41. Lindsay AM, Zhang M, Mitchell Z, Holden MTG, Waller AS, Sutcliffe IC, Black GW. The *Streptococcus equi* prophage-encoded protein SEQ2045 is a hyaluronan-specific hyaluronate lyase that is produced during equine infection. *Microbiology*. 2009 Feb;155(Pt 2):443-449. DOI: 10.1099/mic.0.020826-0
42. Glonti T, Chanishvili N, Taylor PW. Bacteriophage-derived enzyme that depolymerizes the alginic acid capsule associated with cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Microbiol*. 2010 Feb;108(2):695-702. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04469.x
43. hompson JE, Pourhossein M, Waterhouse A, Hudson T, Goldrick M, Derrick JP, Roberts IS. The K5 lyase KfIA combines a viral tail spike structure with a bacterial polysaccharide lyase mechanism. *J Biol Chem*. 2010 Jul 30;285(31):23963-9. DOI: 10.1074/jbc.M110.127571
44. d'Herelle F. 1921. Le bactériophage: son rôle dans l'immunité. Masson et Cie, Paris, France.
45. Bruynoghe R, Maisin J. Essais de thérapeutique au moyen du bacteriophage. *Journal De La Societe De Biologie*. 1921;85:1120-1.
46. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG Jr. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Mar;45(3):649-59. DOI: 10.1128/AAC.45.3.649-659.2001
47. Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):226-35. DOI: 10.4161/viru.2599
48. Жуков-Вережников НН, Перемитина ЛД, Берило ЭА, и др. Изучение терапевтического эффекта препаратов бактериофага в комплексном лечении гнойных хирургических заболеваний. *Советская медицина*. 1978;12:64-66. / Zhukov-Verezhnikov NN, Peremitina LD, Berilo EA, et al. Izuchenie terapevticheskogo efekta preparatov bakteriofaga v kompleksnom lechenii gnoinykh khirurgicheskikh zabolevanii. *Sovetskaya meditsina*. 1978;12:64-66. (In Russian).
49. Кокин ГА. Применение бактериофагов в хирургии. *Советская медицина*. 1941;9:15-18. / Kokin GA. Primenenie bakteriofagov v khirurgii. *Sovetskaya meditsina*. 1941;9:15-18. (In Russian).
50. Кочеткова ВЛ, Мамонтов ЛС, Московцева РЛ, и др. Фаготерапия послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений у онкологических больных. *Советская медицина*. 1989;6:23-26. / Kochetkova VL, Mamontov LS, Moskovtseva PL, et al. Fagoterapiya posleoperatsionnykh gnoinovospalitel'nykh oslozhnenii u onkologicheskikh bol'nykh. *Sovetskaya meditsina*. (In Russian).
51. Kaczowski H, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Zdrojewicz Z, Cwioro F. Use of bacteriophages in the treatment of chronic bacterial diseases. *Wiad Lek*. 1990 Feb 1-15;43(3-4):136-41.
52. Nathan C, Cars O. Antibiotic resistance – problems, progress and prospects. *N Engl J Med*. 2014 Nov 6;371(19):1761-3. DOI: 10.1056/NEJMp1408040
53. Van Boeckel TP, Gandra S, Ashok A, Caudron Q, Grenfell BT, Levin SA, Laxminarayan R. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infect Dis*. 2014 Aug;14(8):742-750. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70780-7
54. Potera C. Phage renaissance: new hope against antibiotic resistance. *Environ Health Perspect*. 2013 Feb;121(2):a48-53. DOI: 10.1289/ehp.121-a48
55. Fu W, Forster T, Mayer O, Curtin JJ, Lehman SM, Donlan RM. Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an *in vitro* model system. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Jan;54(1):397-404. DOI: 10.1128/AAC.00669-09
56. Sillankorva S, Neubauer P, Azeredo J. *Pseudomonas fluorescens* biofilms subjected to phage phiIBB-PF7A. *BMC Biotechnol*. 2008 Oct 27;8:79. DOI: 10.1186/1472-6750-8-79

57. Fukuda K, Ishida W, Uchiyama J, Rashel M, Kato S, Morita T, et al. *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in mice: effects of topical bacteriophage KPP12 administration. *PLoS One*. 2012;7(10):e47742. DOI: 10.1371/journal.pone.0047742
58. Wright A, Hawkins CH, Anggård EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol*. 2009 Aug;34(4):349-57. DOI: 10.1111/j.1749-4486.2009.01973.x
59. Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*. 2011 Mar;1(2):111-114. DOI: 10.4161/bact.1.2.14590
60. Górski A, Międzybrodzki R, Borysowski J, Dąbrowska K, Wierzbicki P, Ohams M, et al. Phage as a modulator of immune responses: practical implications for phage therapy. *Adv Virus Res*. 2012;83:41-71. DOI: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00002-5
61. Lu TK, Koeris MS. The next generation of bacteriophage therapy. *Curr Opin Microbiol*. 2011 Oct;14(5):524-31. DOI: 10.1016/j.mib.2011.07.028
62. Cooper CJ, Khan Mirzaei M, Nilsson AS. Adapting Drug Approval Pathways for Bacteriophage-Based Therapeutics. *Front Microbiol*. 2016 Aug 3;7:1209. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01209
63. Rose T, Verbeken G, Vos DD, Merabishvili M, Vaneechoutte M, Lavigne R. Experimental phage therapy of burn wound infection: difficult first steps. *Int J Burns Trauma*. 2014 Oct 26;4(2):66-73.
64. Bruttin A, Brüssow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jul;49(7):2874-8. DOI: 10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005
65. Lu TK, Collins JJ. Engineered Bacteriophage Targeting Gene Networks as Adjuvants for Antibiotic Therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 24;106(12):4629-34. DOI: 10.1073/pnas.0800442106
66. Rhoads DD, Wolcott RD, Kuskowski MA, Wolcott BM, Ward LS, Sulakvelidze A. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a Phase I safety trial. *J Wound Care*. 2009 Jun;18(6):237-8,240-3. DOI: 10.12968/jowc.2009.18.6.42801
67. Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981–1986. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 1987;35(5):569-83.
68. Ciso M, Dabrowski M, Weber-Dabrowska B, Woytoń A. Bacteriophage treatment of suppurative skin infections. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 1987;35(2):175-83.
69. Strój L, Weber-Dabrowska B, Partyka K, Mulczyk M, Wójcik M. Successful treatment with bacteriophage in purulent cerebrospinal meningitis in a newborn. *Neurol Neurochir Pol*. 1999 May-Jun;33(3):693-8.
70. Fernandes E, Martins VC, Nóbrega C, Carvalho CM, Cardoso FA, Cardoso S, et al. A bacteriophage detection tool for viability assessment of *Salmonella* cells. *Biosens Bioelectron*. 2014 Feb 15;52:239-46. DOI: 10.1016/j.bios.2013.08.053
71. Adriaenssens EM, Van Vaerenbergh J, Vandenheuvel D, Dunon V, Ceysens PJ, De Proft M, et al. T4-related bacteriophage LIMESTONE isolates for the control of soft rot on potato caused by *Dickeya solani*. *PLoS One*. 2012;7(3):e33227. DOI: 10.1371/journal.pone.0033227
72. Spricigo DA, Bardina C, Cortés P, Llagostera M. Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in food and the food industry. *Int J Food Microbiol*. 2013 Jul 15;165(2):169-74. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.009
73. Migueis S, Saraiva C, Esteves A. Efficacy of LISTEX P100 at Different Concentrations for Reduction of *Listeria monocytogenes* Inoculated in Sashimi. *J Food Prot*. 2017 Dec;80(12):2094-2098. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-17-098
74. Fischetti VA. Bacteriophage lysins as effective antibacterials. *Current Opinion in Microbiology*. 2008;11(5):393-400.
75. Pan YJ, Lin TL, Lin YT, Su PA, Chen CT, Hsieh PF, et al. Identification of capsular types in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains by wzc sequencing and implications for capsule depolymerase treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Feb;59(2):1038-47. DOI: 10.1128/AAC.03560-14
76. Mushtaq N, Redpath MB, Luzio JP, Taylor PW. Prevention and cure of systemic *E. coli* K1 infection by modification of the bacterial phenotype. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 May;48(5):1503-8. DOI: 10.1128/aac.48.5.1503-1508.2004
77. Kassa T, Chhibber S. Thermal treatment of the bacteriophage lysate of *Klebsiella pneumoniae* B5055 as a step for the purification of capsular depolymerase enzyme. *J Virol Methods*. 2012 Jan;179(1):135-41. DOI: 10.1016/j.jviromet.2011.10.011
78. Verma V, Harjai K, Chhibber S. Restricting ciprofloxacin-induced resistant variant formation in biofilm of *Klebsiella pneumoniae* B5055 by complementary bacteriophage treatment. *J Antimicrob Chemother*. 2009 Dec;64(6):1212-8. DOI: 10.1093/jac/dkp360
79. Verma V, Harjai K, Chhibber S. Structural changes induced by a lytic bacteriophage make ciprofloxacin effective against older biofilm of *Klebsiella pneumoniae*. *Biofouling*. 2010 Aug;26(6):729-37. DOI: 10.1080/08927014.2010.511196
80. Lin TL, Hsieh PF, Huang YT, Lee WC, Tsai YT, Su PA. Isolation of a bacteriophage and its depolymerase specific for K1 capsule of *Klebsiella pneumoniae*: implication in typing and treatment. *J Infect Dis*. 2014 Dec 1;210(11):1734-44. DOI: 10.1093/infdis/jiu332
81. Hsieh PF, Lin HH, Lin TL, Chen YY, Wang JT. Two T7-like Bacteriophages, K5-2 and K5-4, Each Encodes Two Capsule Depolymerases: Isolation and Functional Characterization. *Sci Rep*. 2017 Jul 4;7(1):4624. DOI: 10.1038/s41598-017-04644-2
82. Pan YJ, Lin TL, Chen CC, Tsai YT, Cheng YH, Chen YY, et al. *Klebsiella* phage φK64-1 encodes multiple depolymerases for multiple host capsular types. *J Virol*. 2017 Feb 28;91(6). pii: e02457-16. DOI: 10.1128/JVI.02457-16
83. Chai H, Allen WE, Hicks RP. Synthetic Antimicrobial Peptides Exhibit Two Different Binding Mechanisms to the Lipopolysaccharides Isolated from *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Med Chem*. 2014;2014:809283. DOI: 10.1155/2014/809283

---

**Информация об авторах:**

Комисарова Екатерина Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, п. Оболенск, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ  
 Телефон: (4967) 36-0003  
 E-mail: ekaterina20009@mail.ru

Красильникова Валентина Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, п. Оболенск, Московская область, ГНЦ ПМБ  
 Телефон: (4967) 36-0003  
 E-mail: krasv55@mail.ru

---

**Information about authors:**

Ekaterina V. Komisarova, junior researcher of laboratory of molecular diagnostics and genetic engineering preparations, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
 Address: SRCAMB, Obolensk, 142279, Russian Federation  
 Phone: (4967) 36-0003  
 E-mail: ekaterina20009@mail.ru

Valentina M. Krasilnikova, PhD (Biology), senior researcher of laboratory of molecular diagnostics and genetic engineering preparations, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
 Address: SRCAMB, Obolensk, 142279, Russian Federation  
 Phone: (4967) 36-0003  
 E-mail: krasv55@mail.ru