

УДК 579.61

Разработка методов антимикробной терапии, преодолевающих антибиотикорезистентность *Acinetobacter baumannii*

О. В. Кисиль¹, Т. А. Ефименко^{1*}, Н. И. Габриэлян², О. В. Ефременкова¹

¹Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, 119021 Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 123182 Россия

*E-mail: efimen@inbox.ru

Поступила в редакцию 07.04.2020

Принята к печати 19.05.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.10955

РЕФЕРАТ Распространение антибиотикорезистентности среди патогенных микроорганизмов представляет глобальную угрозу для здоровья человека. В 2017 году Всемирная организация здравоохранения опубликовала список из 12 приоритетных антибиотикоустойчивых патогенных бактерий, в отношении которых необходимо разработать новые эффективные антибиотики или новые способы лечения вызываемых ими инфекций. Один из таких патогенов – *Acinetobacter baumannii*, рассматриваемый в настоящем обзоре. Бактерия *A. baumannii* – один из самых часто выявляемых инфекционных агентов во всем мире, клинически значимыми особенностями которого являются устойчивость к обработке дезинфицирующими средствами и ультрафиолетом, высушиванию, а также резистентность к различным классам антибиотиков. В представленном обзоре описаны попытки преодоления лекарственной устойчивости *A. baumannii* без применения антибиотиков. Рассмотрен потенциал применения бактериофагов и антимикробных пептидов при инфекциях, вызванных *A. baumannii* как в планктонной, так и в биопленочной форме. Обсуждаются исследования в области разработки вакцин на основе белков внешней мембраны *A. baumannii*, применения наночастиц серебра, фотодинамической и хелатной терапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА *Acinetobacter baumannii*, множественная лекарственная устойчивость, биопленки, бактериофаговая терапия, антимикробные пептиды.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; МЛУ – множественная лекарственная устойчивость; ESKAPE – *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.; МПК – минимальная подавляющая концентрация.

ВВЕДЕНИЕ

Антибиотикотерапия – одно из важнейших достижений медицины 20 века, позволившее спасти миллионы жизней. Однако нельзя не отметить и недостатки антибиотикотерапии, а именно, ту или иную степень токсичности, нарушение микробиома, а также образование резистентных форм патогенов, вызывающих тяжелые инфекционные заболевания. Их быстрое распространение ставит под угрозу результативность современной медицины, включая хирургические вмешательства, трансплантацию органов, гематологические заболевания, при которых у пациентов ослабевает иммунитет и соответственно повышает-

ся вероятность заражения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) *Acinetobacter baumannii* входит в число шести особо опасных бактерий, поскольку обладает множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и не поддается антибиотикотерапии. Для этих видов ВОЗ была предложена аббревиатура ESKAPE (созвучная английскому слову «escape» – ускользать, т.е. ускользать от действия антибиотиков): *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp. [1]. Через 8 лет список бактериальных патогенов, не поддающихся антимикробной

терапии, был расширен до 12 и разделен на три группы по уровню опасности для здоровья человека (критический, высокий и средний), в отношении которых необходимо разработать новые эффективные антибиотики или новые способы лечения вызываемых ими инфекций [2].

В многочисленных работах, опубликованных к настоящему времени, предложены различные варианты антимикробной терапии, эффективной при инфекциях, вызванных устойчивыми патогенами [3]. Данный обзор концентрируется исключительно на устойчивых к антибиотикам штаммах грамотрицательного патогена *A. baumannii* и ставит своей целью описать альтернативные подходы к лечению инфекций, вызванных *A. baumannii*, включая бактериофаговую терапию, профилактическую вакцинацию, световую терапию, терапию ионами серебра и хелатную терапию.

Род *Acinetobacter* включает грамотрицательные, строго аэробные, лактозонеферментирующие, неподвижные бактерии палочковидной формы. Представители рода *Acinetobacter* являются повсеместно распространенными сапрофитными микроорганизмами. Они могут быть выделены из разных источников – почвы, поверхностных вод, слизистых оболочек верхних дыхательных путей людей. В настоящее время род *Acinetobacter* включает 27 видов. С клинической точки зрения наибольший интерес вызывают три филогенетически родственных вида *Acinetobacter*: *A. baumannii*, *A. pittii* и *A. nosocomialis*. Именно они являются наиболее значимыми патогенами, вызывающими внутрибольничные инфекции [4]. К важным приспособительным признакам *A. baumannii* относится высокая частота мутаций, приводящая к быстрому развитию антибиотикорезистентности. На рис. 1 показаны временные интервалы между введением антибиотика в медицинскую практику и установлением резистентности *A. baumannii* к этому антибиотику [5].

Предположительно впервые инфекции, вызванные *A. baumannii*, были зафиксированы на военных очистных сооружениях США во время войны в Ираке и Афганистане [6, 7]. Бактерия *A. baumannii* даже получила название «Иракибактер», так как от нее пострадали тысячи американских солдат во время войны в Ираке [8]. Первые исследования вспышек внутрибольничных инфекций, вызванных *A. baumannii*, провели в начале 1980-х годов [9, 10]. Интересно отметить, что 30 лет назад инфекции, вызываемые представителями *Acinetobacter*, не считались проблемой общественного здравоохранения, при том что у *A. baumannii* изначально были зафиксированы и описаны механизмы врожденной резистентности. Однако, как показывают исследо-



Рис. 1. Временные интервалы между введением антибиотика и первым сообщением о резистентности у *Acinetobacter baumannii* [5]

вания последнего десятилетия, в дополнение к собственным внутренним механизмам резистентности *A. baumannii* может за счет горизонтального переноса генов успешно приобретать множественные детерминанты устойчивости, становясь бактерией с МЛУ. Сегодня штаммы *A. baumannii* с МЛУ распространены в больницах по всему миру как эндемически, так и эпидемически, с уровнем смертности в диапазоне от 40 до 70% при искусственной вентиляции легких, 25–30% при менингите и 34–49% при бактериемии [11]. Изучение распространенности инфекций в отделениях интенсивной терапии, проведенное в 75 странах пяти континентов, позволяет считать *A. baumannii* одним из самых распространенных инфекционных агентов в мире [12]. На сегодняшний день по оценке ВОЗ распространение *A. baumannii* с МЛУ представляет серьезную глобальную угрозу. В табл. 1 отмечены основные этапы утверждения *A. baumannii* в роли нозокомиального патогена с множественной лекарственной устойчивостью.

Секвенирование геномов 49 штаммов *A. baumannii* с МЛУ в рамках одной больничной системы США показало уникальность практически каждого проанализированного штамма [25]. Сравнительный анализ генетических элементов, гомологичную рекомбинацию в пределах всего генома, делеции и мутации – и все это в течение коротких промежутков времени. Вариации штаммов по составу генов не имели четких пространственных (местоположение в больнице) или временных закономерностей, что доказывает существование в данной больнице пула циркулирующих штаммов со значительным взаимодействием друг с другом. Таким образом, обмен генетическим

Таблица 1. *Acinetobacter baumannii*, история изучения

Год	Событие	Ссылка
1911	Впервые описан род <i>Acinetobacter</i>	[13]
1968	Принято современное обозначение рода <i>Acinetobacter</i> (с греч. <i>akinetos</i> – неподвижный), предложенное Brisou и Prevot в 1954 г.	[14, 15]
1974	Обозначение рода включено в «Определитель Bergey» (описан как имеющий только один вид: <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>)	[16]
1984	Первое сообщение об устойчивости к имипенему	[17]
1986	Комплекс <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> подразделен на четыре вида на основании исследований гибридизации ДНК: <i>A. calcoaceticus</i> ; <i>A. baumannii</i> ; <i>A. pittii</i> ; <i>A. nosocomialis</i> <i>A. baumannii</i> описан как возбудитель внутрибольничных инфекций	[18]
1999	Первое сообщение об устойчивости к колистину	[19]
2001	ВОЗ публикует первый международный призыв: «Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам»	[20]
2007	Первое сообщение об устойчивости к тигециклину	[21]
2009	Группу бактерий, опасных для здоровья человека, объединяют в ESKAPE (включая <i>Acinetobacter</i>)	[1]
	США (CDC) и ЕС (ECDC) создают трансатлантическую целевую группу по устойчивости к противомикробным препаратам (TAFTAR)	[22]
2015	ВОЗ разрабатывает новый «Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам»	[23]
2017	ВОЗ публикует «Глобальный приоритетный список антибиотикорезистентных бактерий для руководства исследованием, открытием и разработкой новых антибиотиков»	[24]

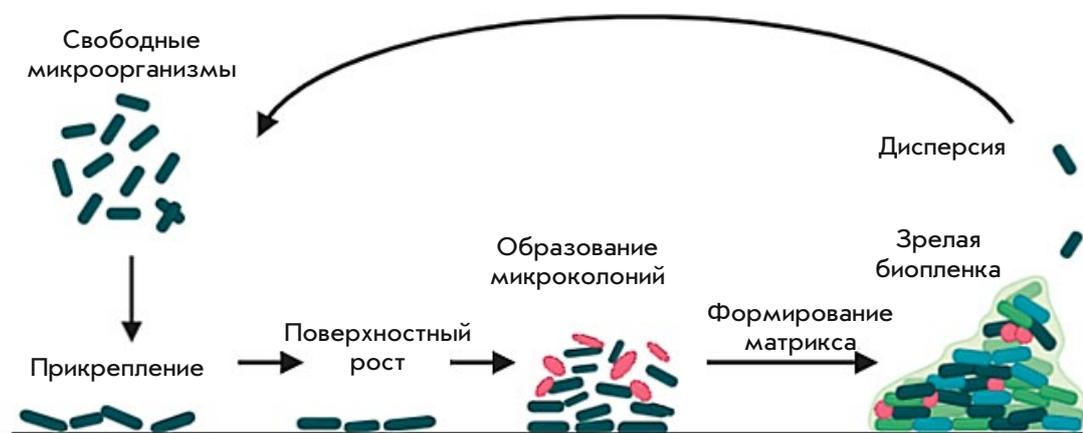


Рис. 2. Этапы формирования биопленки

материалом и перестройки бактериального генома приводят к множественным генетическим комбинациям и обеспечивают бесконечный источник генетической адаптивности *A. baumannii*.

Успеху выживаемости *A. baumannii* в качестве внутрибольничного патогена способствует не только возможность «переключать» свою геномную структуру, улавливая маркеры устойчивости, но также врожденная способность к образованию биопленок [11]. В отличие от планктонного состояния биопленки представляют собой сообщества бактерий, заключенные в самопродуцируемый экзополисахаридный матрикс, который служит для прикрепления бактерий к поверхностям, включая медицинские имплантаты и ткани человека: зубы, кожу, трахею, мочеиспускательный канал. Известно, что бактерии в био-

пленке могут быть в 10–1000 раз более устойчивыми к антибиотикам, чем их планктонные формы [26]. Инфекции, связанные с образованием прикрепленной к поверхностям биопленки, очень трудно лечить. Поэтому предотвращение ранней стадии формирования биопленки считается важным этапом лечения/предупреждения инфекции.

Формирование биопленки является поэтапным процессом, который включает три фазы: адгезию, созревание и рассеивание (рис. 2). В фазе адгезии планктонные клетки прикрепляются к поверхности посредством слабых взаимодействий [27]. После первичного прикрепления слабо связанные клетки стабильно прикрепляются за счет более специфических молекулярных взаимодействий между бактериальными поверхностными структурами, такими,

как пили, и молекулами хозяина, которые функционируют как рецепторы (например, фибронектин). В фазе созревания биопленки бактерии производят большое количество экзополисахаридов, которые формируют большую часть биомассы биопленки. В фазе рассеивания клетки (единичные или кластеры) отделяются для колонизации соседних мест. Биопленка обладает высокой устойчивостью к лекарственным препаратам из-за низкой диффузии в нее антибиотиков, наличие персистирующих клеток, медленным темпам роста и низкому метаболизму клеток, которые существуют глубоко в биопленке. Биопленке свойственно увеличение горизонтальной передачи генов устойчивости (из-за близости клеток). Доказано, что *A. baumannii* обладает способностью прикрепляться к тканям и формировать биопленку в местах хирургического вмешательства, это осложняет профилактику и лечение инфекции, оно особенно критично при применении медицинских имплантатов [28].

Во время вспышек внутрибольничных инфекций изоляты *A. baumannii* были обнаружены на различных поверхностях, окружающих пациентов, включая мебель и больничное оборудование, двери, выключатели, умывальники и т.д., – более 30 наименований [11]. Следует отметить, что вспышки инфекции, связанные с зараженными предметами, исчезают после того, как источник заражения удаляют, меняют или надлежащим образом дезинфицируют. На сегодняшний день правильная гигиена, в частности гигиена рук, является эффективным и простым методом предупреждения бактериальной инфекции независимо от ее природы.

Механизм заражения *A. baumannii* связан с рядом факторов, к которым относят: длительное пребывание в больнице (особенно в реанимационных отделениях); тяжесть заболевания; процедуры переливания крови; использование внутрисосудистого катетера или эндотрахеальной трубки; интубацию при искусственной вентиляции легких; неадекватную начальную антибактериальную терапию и загрязнение *A. baumannii* окружающей больного среды. Загрязненные поверхности, медицинское оборудование и/или плохая гигиена рук и нарушение санитарных требований пациентами и медицинским персоналом могут служить резервуарами или быть причиной быстрой передачи инфекционного агента, при которых медицинский персонал выступает в качестве средства доставки микроорганизмов к пациентам или способствует их обмену между пациентами [29]. *A. baumannii* передается от человека к человеку воздушно-капельным путем, поэтому дыхательная система является основным путем заражения. S. Kota и соавт. обнаружили, что бактерии могут

распространяться также через раковины для мытья рук [30]. Показано, что бактерии размножаются в водосточных трубах в виде биопленки и постепенно занимают пространство выше по трубе по направлению к раковине. Потоки воды из крана вызывают рассеивание капель, с которыми распространяются бактерии.

Заболевания, вызванные *A. baumannii*, не отличаются какими-то особыми клиническими проявлениями от других инфекций. Тем не менее, некоторые специфические особенности могут помочь врачам предположить инфицирование именно *A. baumannii*, такие, как: (1) позднее проявление инфекции и (2) чрезмерное применение антибиотиков широкого спектра на первых этапах лечения. Необоснованное применение антибиотиков считается основной причиной появления значительной доли вариантов *A. baumannii* с МЛУ [31]. Неоднократно показано, что использование антибиотиков в концентрациях ниже МПК приводит к повышению вероятности формирования капсул/биопленок *A. baumannii* [32].

Эффективность противомикробных препаратов в отношении грамотрицательных бактерий зависит от баланса нескольких фундаментальных молекулярных внутриклеточных процессов, которые происходят до взаимодействия противомикробного препарата с мишенью: (1) притока лекарственных средств, опосредованного поринами, (2) оттока, опосредованного эффлюксными системами, (3) инактивации препарата, обычно путем необратимого расщепления, катализируемого периплазматическими и цитоплазматическими ферментами, и (4) модификации мишени, с которой может связываться препарат [33]. Высокая устойчивость *A. baumannii* к противомикробным препаратам обусловлена взаимосвязью всех перечисленных механизмов и достигается при помощи получения новой генетической информации посредством горизонтального переноса генов и мутаций. Приобретение новых генетических детерминант штаммами *A. baumannii* происходит за счет комбинированного воздействия мобильных генетических элементов (инсерционные последовательности, транспозоны), интегронов и переносимых плазмид. Изменения могут быть вызваны либо спонтанными мутациями, приводящими к модификации мишени лекарства, либо инсерциями/делециями подвижных элементов, изменяющими экспрессию механизмов эндогенной устойчивости или проницаемость мембран. В дополнение к перечисленным механизмам *A. baumannii* может накапливать множество детерминант устойчивости в так называемых «островках устойчивости» – специфических областях генома, которые содержат кластеры горизонтально перенесенной ДНК, включающие гены устойчивости

к противомикробным препаратам. Такие кластеры обеспечивают безопасное «убежище» для мобильных элементов, так как вставка в этом сайте не вызывает каких-либо повреждений клетки-хозяина [34, 35]. Предполагается, что *Acinetobacter* spp. может играть важную роль в передаче генов устойчивости другим грамотрицательным микроорганизмам [36].

Тридцать лет назад инфекции, вызванные *A. baumannii*, можно было эффективно лечить с помощью традиционных антибиотиков, однако глобальное распространение штаммов с МЛУ резко сократило количество средств, эффективных при инфекциях, вызванных данным патогеном. На сегодняшний день установлено, что *A. baumannii* обладает устойчивостью к таким антибиотикам, как аминопенициллины, цефалоспорины, хлорамфеникол, а также аминогликозиды, фторхинолоны и тетрациклины широкого спектра действия [29]. Множественная лекарственная устойчивость многих клинических изолятов *A. baumannii* серьезно ограничивает доступные современные варианты лечения, поэтому существует острая потребность в новых терапевтических средствах и способах, эффективных в отношении *A. baumannii* с МЛУ.

В последние годы при инфекциях, вызванных грамотрицательными бактериями с МЛУ, все чаще применяют комбинированную терапию. Очевидно, что вероятность возникновения резистентности против комбинации двух препаратов намного меньше, чем против одного. Кроме того, синергический эффект комбинированных антибиотиков превышает эффект от применения отдельных антибиотиков. Однако некоторые комбинации вызывают противоположный эффект, что приводит к гораздо более серьезным повреждениям. Один антибиотик может индуцировать механизм устойчивости ко второму антибиотику, вводимому в комбинации, что приводит к антагонистическому эффекту [3].

Хорошие перспективы для использования в клинической антибактериальной практике имеют адъюванты. Сами по себе эти вещества практически не обладают антимикробной активностью, но в сочетании с антибиотиками адъюванты способны ингибировать механизмы резистентности различными способами: (1) путем увеличения поглощения антибиотика через бактериальную мембрану, (2) блокированием эффлюксных насосов, (3) изменением физиологии устойчивых клеток, способствующей распространению биопленок, в частности, путем гашения чувства кворума [37]. Известно, что бактерии вырабатывают химические сигналы, необходимые для межклеточной коммуникации и адаптации к окружающей среде. Механизм чувства кворума («кворум сенсинг») у бактерий заключается в экспрессии определенного

фенотипа при достижении высокой плотности популяции [38]. Молекулы, ингибирующие чувство кворума, подавляют фенотипическое проявление признака, например образование биопленки. Так действует 1-[(2,4-дихлорфенетил)амино]-3-феноксипропан-2-ол, комбинации которого с различными антибиотиками подавляют рост всех патогенов группы ESKAPE как в планктонной, так и в биопленочной форме [39].

Общее количество антибиотиков, эффективных при грамотрицательных инфекциях, уменьшается с каждым годом. В XXI веке в медицинскую практику внедрено всего 33 антимикробных препарата, из них только два новых природных антибиотика – даптомицин и фидаксомицин [40]. Анализ списков антибиотиков, рекомендованных Институтом клинических и лабораторных стандартов (CLSI, США), показал, что, начиная с 2010 года, многие антибиотики, предложенные для лечения инфекций, связанных с ESKAPE, были заменены относительно небольшим количеством комбинаций антибиотик + антибиотик [3]. Таким образом, в связи с ограниченной возможностью применения антибиотиков при инфекциях, вызванных грамотрицательными бактериями с МЛУ, существует необходимость поиска альтернативных стратегий. Среди них выделяют такие методы, как применение бактериофагов и их ферментов, антимикробных пептидов, фотодинамической и хелатной терапии, наночастиц.

БАКТЕРИОФАГОВАЯ ТЕРАПИЯ

Одним из возможных терапевтических средств против *A. baumannii* являются бактериофаги – самые распространенные на планете организмы, число которых по ряду оценок превосходит 10^{31} [41]. Фундаментальный аспект взаимодействия фаг–бактерия – специфичность фага, т.е. способность инфицировать строго определенную бактерию-хозяина. Бактериофаги адсорбируются на клеточной стенке бактерий, вводят свой геном через мембрану в клетку, за счет которой экспрессируют собственные гены, реплицируют геном в клетке-хозяине и высвобождают сформировавшиеся вирионы после лизиса бактериальных клеток. К преимуществам бактериофаговой терапии по сравнению с антибиотикотерапией относятся лекарственная переносимость и более низкие темпы возникновения резистентности бактерий к бактериофагам. Кроме того, бактериофаги высоко специфичны к своим мишеням, в отличие от антибиотиков широкого спектра действия, которые убивают нормальную бактериальную флору и нарушают микробиом здорового человека [42].

По мере того как повышается заболеваемость и смертность от патогенов с МЛУ, во всем мире возвращается интерес к бактериофагам. Начиная с 2010

Таблица 2. Обобщенные данные применения бактериофагов

Антимикробный агент	Модель инфекции	Эффективность подавления инфекции	Антибиопленочная активность	Источник
WCHABP1, WCHABP12	Инфицированные личинки <i>Galleria mellonella</i>	Выживаемость личинок <i>Galleria mellonella</i> увеличилась до 75%	*	[47]
Фаг (без обозначения, вероятно, принадлежит к семейству <i>Siphoviridae</i>)	Раневая инфекция у крыс	100% подавление патогена	*	[48]
Коктейль из АВ-Army1 и АВ-Navy1-4	Раневая инфекция у мышей	Подавление патогена	▲	[49]
Коктейли из АВ-Navy1, АВ-Navy4, АВ-Navy71, АВ-Navy97 и АbTP3Ф1	Псевдокиста поджелудочной железы человека	100% подавление патогена	*	[50]

Примечание: «*» – нет данных; «▲» – разрушение биопленки.

года учеными разных стран обнаружены новые бактериофаги, инфицирующие *A. baumannii* с МЛУ [43–46]. В большинстве случаев бактериофаги против *A. baumannii* изучали *in vitro*, однако в последние годы способность бактериофагов лизировать *A. baumannii* все чаще оценивают путем моделирования инфекционного процесса у животных. В табл. 2 обобщены результаты бактериофаговой терапии инфекций, вызванных *A. baumannii*, за последние 5 лет. Так, показано, что два литических бактериофага, выделенных из сточных вод больницы, смогли инфицировать более 50% карбапенем-устойчивых клинических штаммов *A. baumannii*. Менее 20% личинок *Galleria mellonella* выжили через 96 ч после инфицирования *A. baumannii*. При введении бактериофагов выживаемость личинок увеличилась до 75%, в то время как лечение полимиксином В повысило выживаемость только до 25% [47]. Выявлено также улучшение заживления раневой инфекции в группе, зараженной фагом, и значительное снижение смертности у крыс по сравнению с инфицированными животными, получавшими антибиотик [48].

Коктейль из бактериофагов успешно использовали в борьбе с *A. baumannii* на модели раневой инфекции у мышей: наблюдали снижение бактериальной нагрузки в ране, предотвращение распространения инфекции и некроза окружающих тканей [49]. Показано, что бактериофаги в коктейле функционируют комбинированным образом: действие одного из них направлено на перевод популяции *A. baumannii* из пленочного в планктонное состояние, в котором клетки чувствительны к другим бактериофагам в смеси. Хотя отдельные бактериофаги в этой работе обладали некоторыми антибактериальными свойствами, но они не были такими эффективными, как комплексный коктейль бактериофагов [49]. Следует отметить, что тестирование коктейля бактериофагов против коллекции из 92 клинических изолятов *A. baumannii*

с МЛУ выявило восприимчивость к терапии только 10 штаммов – это подчеркивает узкий спектр действия фагов, что необходимо учитывать при использовании фагов в качестве терапевтического средства. При составлении коктейля бактериофагов оптимально использовать бактериофаги, принадлежащие к разным семействам и обладающие широким спектром хозяев – разных изолятов *A. baumannii*.

Коктейль бактериофагов успешно применяли в терапии больного диабетом и некротическим панкреатитом, осложненным *A. baumannii* с МЛУ [50]. Несмотря на многочисленные курсы антибиотиков (комбинация меропенема, тигециклина и колистина), состояние 68-летнего пациента ухудшалось в течение 4-месячного лечения. Из-за неэффективности антибиотикотерапии были составлены три фаговых коктейля с литической активностью против *A. baumannii*. Введение их внутривенно и подкожно в полость абсцесса привело к полному излечению пациента. Следует отметить, что в ходе лечения появились серийные изоляты *A. baumannii* с существенно сниженной чувствительностью к введенным фагам, т.е. популяция *A. baumannii* стала эволюционировать в ответ на селекционное давление, оказываемое фагами. Это совпадает с данными [51], согласно которым в процессе применения литических бактериофагов некоторые клетки *A. baumannii* могут приобрести резистентность и избежать лизиса бактериофагами. Бактериофаг теряет способность эффективно инфицировать своего хозяина, если рецепторы становятся недоступными, например из-за образования биопленки, которая препятствует доступу бактериофагов к поверхности клетки-хозяина. Несмотря на то что коктейль бактериофагов потерял антибактериальную активность, оказалось, что он предотвращает рост *A. baumannii* с повышенной устойчивостью к миноциклину [50]. Этот антибиотик был добавлен к терапии бактериофагом через 4 дня после

первоначального введения коктейля. Комбинаторная активность между бактериофагами и традиционными антибиотиками показана ранее на животных моделях [49]. Очевидно, перевод популяции *A. baumannii* в некапсулированное состояние приводит к тому, что антибиотики могут легче проникать через внешнюю мембрану бактерий. Таким образом, в дополнение к потенциальному терапевтическому применению бактериофаги можно использовать для разрушения/удаления биопленок *A. baumannii*. При этом комбинация фагов с антибиотиками создает ситуацию, в которой уничтожение бактерий будет обеспечено либо бактериофагом, либо антибиотиком, либо их совместным действием.

Считается, что бактериофаги могут способствовать передаче генетических элементов, обуславливающих лекарственную устойчивость и патогенность бактерий, однако, при культивировании на бактериальном изоляте, уже присутствующем у пациента, риск введения экзогенной генетической информации, обеспечивающей повышенную вирулентность или устойчивость к антибиотикам, сводится к минимуму. Кроме того, природная специфичность бактериофага к виду бактерии и даже к штамму сводит к минимуму потенциал горизонтального переноса генов по сравнению с более беспорядочной конъюгацией плазмиды или поглощением экзогенной ДНК в естественно трансформируемых бактериях.

Многочисленные успехи в лечении инфекций, вызванных вариантами *A. baumannii* с МЛУ, путем местного и системного введения разнообразных бактериофагов, в том числе совместно с антибиотиками, еще раз подчеркивают потенциал бактериофагов при бактериальных инфекциях. Однако терапию бактериофагом трудно стандартизировать для массового производства и хранения. Кроме того, полные геномы бактериофагов содержат некоторые гены с неизвестными функциями, что затрудняет прогнозирование долгосрочной безопасности бактериофагов [52].

Процесс адсорбции фага на восприимчивой клетке-хозяине определяется специфическим взаимодействием между рецепторсвязывающими белками фага, находящимися на хвостовых фибриллах (с или без ферментативной активности), и специфическим рецептором на поверхности клетки. Известно, что деполимеразы полисахаридов – ферменты, ответственные за частичное разрушение полисахаридов клеточной стенки бактерии, являются распространенными составляющими шипов и фибрилл бактериофагов. Разрушение бактериальной капсулы уменьшает образование биопленки и снижает устойчивость к антибиотикам, поэтому было предложено использовать деполимеразы бактериофагов для разрушения биопленки при лечении бактериальных

инфекций [53–55]. Показано, что различные фаги, выделенные против *A. baumannii*, кодируют деполимеразу, которая успешно разрушает капсульный экзополисахарид бактерии [53, 56, 57]. Так, эндолизин (LysAB3) бактериофага ФАВ3, специфичного к *A. baumannii*, эффективно разрушает бактериальную биопленку и связанную с биопленкой *A. baumannii in vitro* [58]. Антибактериальный механизм LysAB3 может быть связан со способностью структурной области амфифильного пептида усиливать проницаемость цитоплазматической мембраны *A. baumannii* путем деградации пептидогликана бактериальной стенки.

Бактериофаги, заражающие виды *Acinetobacter*, обычно обладают высокой специфичностью к штамму-хозяину [59]. С точки зрения терапевтического применения высокая специфичность бактериофагов может рассматриваться как полезный, так и ограничивающий фактор. Однако если гены, кодирующие белок хвостовой фибриллы бактериофага, заменить генами других фагов, то новый химерный фаг утратит чувствительность к исходным хозяевам и сможет лизировать клетки новых хозяев. Так, химерный фаг ФАВ1tf6, полученный путем замены гена, кодирующего белок хвостовой фибриллы фага ФАВ1, на соответствующий ген из ФАВ6, приобрел диапазон хозяев второго бактериофага [53].

Белки хвостовых шипов бактериофагов могут использоваться в качестве инструмента биоинженерии для получения гликоконъюгатной вакцины против *A. baumannii* [53, 60, 61]. Гликоконъюгатные вакцины получают путем конъюгации антибактериального экзополисахарида с белком-носителем. Известно, что вакцина на основе олигосахаридных фрагментов вызывает более сильную иммунную реакцию, чем вакцина на основе цельных бактериальных экзополисахаридов из-за неоднородности последних. Поскольку химический синтез полисахаридов трудоемок и имеет низкий выход, а химический гидролиз бактериальных экзополисахаридов приводит к образованию смеси гетерогенных олигосахаридных фрагментов, то использование белков хвостовых шипов фага, способных гидролизовать экзополисахарид бактерий, выступает в качестве возможной альтернативы получению олигосахаридов заданного размера. Показано, что белок хвостового шипа бактериофага ФАВ6 способен деполимеризовать экзополисахарид штамма *A. baumannii* 54149 с образованием гомогенных олигосахаридных фрагментов, которые могут служить основой для получения гликоконъюгатной вакцины [60, 61].

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ВАКЦИНАЦИЯ

Одним из альтернативных способов борьбы с бактериальными инфекциями может стать профи-

лактическая вакцинация [62]. Классическая вакцина – это фармацевтический продукт, который стимулирует иммунную систему, предотвращая развитие патогенных микроорганизмов. Чтобы вызвать длительный иммунный ответ, включающий как врожденную, так и адаптивную иммунную системы, вакцина должна напоминать патоген, но при этом не вызывать сопутствующего заболевания. В первых работах, направленных на разработку вакцин против *A. baumannii*, предполагалось включение в вакцину множества бактериальных антигенов. Считалось, что вакцины на основе цельных клеток могут стимулировать ответ против множества антигенов, что обеспечит защиту от широкого спектра штаммов в пределах вида. Так, в качестве антигена успешно использовали везикулы наружной мембраны *A. baumannii* [63]. Инактивированная цельноклеточная вакцина успешно защищала мышей от двух клинических изолятов *A. baumannii*, в том числе от резистентного штамма. Позднее для разработки вакцины стали использовать отдельные бактериальные компоненты. На модели внутрибрюшинной инфекции *A. baumannii* у мышей установлено, что вакцинация специфическим белком клеточной поверхности, вовлеченным в формирование биопленки *A. baumannii*, снижает бактериальную нагрузку в тканях и приводит к образованию высоких титров антител [64].

Показано, что белки внешней мембраны *A. baumannii* OmpA, Omp34 kDa и OprC эффективны для разработки противобактериальной вакцины. Создана ДНК-вакцина, состоящая из плазмид, кодирующих два белка наружной мембраны *A. baumannii*, OmpA и Pal [65]. Белок OmpA считается наиболее перспективным антигеном для разработки вакцин против *A. baumannii*, так как он является фактором вирулентности, участвующим в патогенезе *A. baumannii*, и проявляет высокую иммуногенность на животных моделях. Кроме того, OmpA высоко консервативен среди различных штаммов, это наиболее распространенный белок, идентифицированный в везикулах наружной мембраны *A. baumannii*. Pal – пептидогликан-ассоциированный липопротеин клеточной оболочки, играет важную роль в обеспечении целостности внешней мембраны. На мышинной модели пневмонии показана значительная эффективность ДНК-вакцины против острой инфекции *A. baumannii*; при иммунизации мышей, зараженных клиническими штаммами *A. baumannii*, наблюдалась эффективная перекрестная защита.

Профилактическая вакцинация и пассивная иммунизация могут быть весьма эффективными для профилактики и лечения наиболее распространенных и серьезных инфекций, вызванных *A. baumannii*. Однако лишь немногие из вакцин, испытан-

ных на животных, были включены в клинические исследования, и пока ни одна вакцина против *A. baumannii* не разрешена для иммунизации людей. Кроме того, открытым остается вопрос, какие группы населения получают пользу от профилактической вакцинации против *A. baumannii* и когда они должны быть вакцинированы?

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ

Антимикробные пептиды (АМП) соответствуют определению «антибиотики», они образуются живыми организмами и проявляют антибиотическое действие в отношении патогенных микроорганизмов. Одним из первых из слез и слюны человека выделили лизоцим, открытый Александром Флемингом в 1920-е годы. В 1939 году на заре науки об антибиотиках были описаны грамицидины, пептидные антибиотики бациллярного происхождения. В настоящее время АМП обнаружены у организмов всех таксономических групп. У большинства многоклеточных организмов АМП являются ключевым элементом неспецифической врожденной системы защиты, они входят в первую линию обороны от вторжения широкого спектра патогенных микроорганизмов [66–68]. В данном обзоре рассмотрена особая группа антимикробных пептидов, а именно, образующихся в организме человека и животных. Эти АМП также соответствуют определению – «гуморальные факторы врожденного иммунитета» [69].

Природные антимикробные пептиды обычно состоят из 12–60 аминокислотных остатков и содержат катионные аминокислоты, как правило, остатки аргинина и лизина. Это позволяет АМП взаимодействовать с отрицательно заряженными бактериальными мембранами, а в некоторых случаях даже проникать через них – транслоцироваться в клетки-хозяева, благодаря большому градиенту электрического потенциала, что приводит к лизису бактериальной клетки [70]. Помимо разрушения мембран, АМП могут вмешиваться во внутриклеточные процессы, предотвращая биосинтез нуклеиновых кислот, белков и клеточных стенок. Кроме бактериальной мембраны, мишенями для АМП могут служить пептидогликаны клеточной стенки, цитозольные РНК, белки или цитозольные ферменты/шапероны [71].

В настоящее время многие АМП высших организмов проходят клинические испытания в качестве потенциальных новых антимикробных лекарственных средств или в качестве дополнения к существующим антибиотикам в схемах лечения инфекционных заболеваний [72]. В табл. 3 суммированы результаты изучения способности АМП подавлять инфекции, вызванные *A. baumannii*. Показано, что гистатин 5 (Hst 5), богатый гистидином АМП, выделенный

Таблица 3. Обобщенные данные применения антимикробных пептидов

Антимикробный агент	Модель инфекции	Эффективность подавления инфекции	Антибиопленочная активность	Источник
Hst 5 (П)	<i>in vitro</i>	85–90% подавление патогена	–	[73]
LL37 (П), WLBU2 (С)	<i>in vitro</i>	Подавление патогена	Δ	[28]
1018 (П)	<i>in vitro</i>	Подавление патогена	▲, Δ	[74]
HBcARD-150-177C (М)	Инфекция легких у мышей	Выживаемость мышей увеличилась до 62.5–80%	*	[75]
SAAP-148 (С)	Раневая инфекция мышей, <i>ex vivo</i> раневая инфекция кожи человека	100% подавление патогена	▲, Δ	[76]
K11 (С)	Раневая инфекция у мышей	99% подавление патогена	*	[77]
N10 (С), NB2 (С)	<i>in vitro</i>	Подавление патогена	▲	[79]

Примечание: «П» – природный АМП; «М» – модификация природного АМП; «С» – синтетический АМП; «–» – нет активности; «*» – нет данных; «▲» – разрушение биопленки, «Δ» – предотвращение образования биопленки.

из слюны человека и высших приматов, проявляет сильную бактерицидную активность в отношении патогенов ESKAPE [73]. Действие данного АМП вызвало гибель 85–90% клеток *A. baumannii*, при этом Hst 5 не показал значимой антибиопленочной активности в отношении *A. baumannii*. Установлено, что конъюгация Hst 5 со спермидином приводит к усилению бактерицидной активности пептида против *A. baumannii*. Опубликованы также результаты тестирования природного пептида 1018, который запускает деградацию важного сигнального нуклеотида (p)ppGpp [74]. Обработка пептидом 1018 в концентрациях, не влияющих на рост планктонных клеток, полностью предотвращала образование биопленки и приводила к уничтожению зрелых биопленок у репрезентативных штаммов как грамположительных, так и грамотрицательных патогенов, включая *A. baumannii*. Низкие концентрации пептида 1018 приводили к рассеиванию биопленки, более высокие – вызывали гибель клеток биопленки. Таким образом, распознавание и рассеивание бактериальных мембран (без уничтожения бактерий) могут мешать прикреплению бактерий к поверхностям (например, медицинским имплантатам или местам хирургического вмешательства) и способствовать успеху антимикробной терапии.

Помимо природных АМП, предложены синтетические производные с улучшенной активностью, в разработке которых в качестве эталонного шаблона использовали природные АМП. Показано, что химерные АМП, созданные из двух различных АМП, улучшают антимикробную активность. Другие успешные примеры модификации АМП включают замены на D-аминокислоты, β-нафтилаланин, α,α-диалкиламиноокислоты [75]. На основе АМП LL-37 человека получена панель из синтетических пептидов [76]. Показано, что пептид SAAP-148 подавляет

A. baumannii с МЛУ, не вызывая резистентности, а также предотвращает образование биопленки. Показано, что 4-часовой курс лечения мазью с гипромеллозой, содержащей SAAP-148, полностью ликвидирует острые и связанные с биопленкой инфекции *A. baumannii* в моделях раневой инфекции кожи человека *ex vivo* и кожи мыши *in vivo*. Синтетический пептид K11 (гибрид цекропина A1, мелиттина и магайнина 2) в субингибирующей концентрации проявляет антимикробную активность в отношении *A. baumannii* [77]. Кроме того, K11 обладает способностью модулировать уровни окислителей и антиоксидантов, способствуя тем самым регенерации раневой ткани у мышей. Показано, что K11, смешанный с гидрогелем карбапола, вызывает заживление инфицированных ран благодаря синергизму антибактериальных свойств АМП с увлажняющими свойствами геля. Таким образом, АМП, благодаря их двойной биоактивности, способны не только уничтожать инфекцию, но и проявлять иммуномодулирующие свойства. В связи с этим АМП рассматриваются как перспективные терапевтические средства для лечения инфекций кожи и мягких тканей.

Одним из подходов к идентификации пептидов, обладающих антибактериальными свойствами, является метод фагового дисплея [78]. Этим методом были выбраны пептиды, нацеленные на *A. baumannii* [79]. Пептиды, действующие на клеточную мембрану *A. baumannii*, идентифицировали с помощью биопенинга (аффинной селекции) с использованием пептидной библиотеки на пяти устойчивых штаммах, культивируемых на среде, содержащей кровь человека. Для идентификации панели антибиопленочных пептидов в среду добавляли биопленку, образованную штаммами *A. baumannii*. Таким образом обнаружили ряд пептидов, специфичных для *A. baumannii*, среди которых два пептида выбрали с учетом сход-

ства их аминокислотного состава с другими известными АМП. Оба пептида обладали антибактериальной активностью в отношении *A. baumannii* (МПК 500 мкг/мл), а также значительной антибиопленочной активностью, причем комбинация двух пептидов более эффективно снижала образование биопленки *A. baumannii*, чем каждый отдельный пептид [79].

Однако новые АМП, несмотря на многочисленные успешные результаты их испытания *in vitro* и *in vivo*, еще не нашли клинического применения. Внедрению АМП в медицинскую практику препятствует их разрушение тканевыми протеазами или цитотоксичность.

СВЕТОВАЯ АНТИМИКРОБНАЯ ТЕРАПИЯ

Световая антимикробная терапия как сама, так и в сочетании с фотосенсибилизатором приводит к развитию фотоокислительного стресса, который вызывает гибель микробов. Исследования *in vitro* показали, что синий свет эффективен против как планктонной, так и биопленочной форм роста всех шести патогенов ESKAPE, в том числе *A. baumannii* [80]. Этот вывод подтвержден также данными *in vivo*. Показано, что использование слабопроникающего синего света с длиной волны 415 ± 10 нм может быть предпочтительным при раневых инфекциях и дезинфекции внутрибольничной среды. Бактериальные биопленки также были высоко восприимчивы к синему свету. В целом, фотодинамическая терапия считается перспективным подходом к лечению инфекций, вызванных патогенами ESKAPE, особенно при местном применении.

МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ НАНОЧАСТИЦЫ

Металлические наночастицы, в частности серебро и содержащие серебро соединения, в последнее время вызывают все больший интерес при бактериальных инфекциях. Наночастицы серебра (AgNP), синтезированные с использованием физических, химических или биологических методов, высвобождают катионы серебра, которые нарушают транспорт электронов и путей передачи сигнала или вызывают образование активных форм кислорода, что, в конечном итоге, повреждает такие важные биомолекулы, как компоненты клеточной стенки, мембраны, ДНК или белки. Серебро является эффективным противомикробным средством с низкой токсичностью. Комбинация AgNP с антибиотиками может стать эффективным решением проблемы МЛУ штаммов *A. baumannii*, возможно, в более низких и менее токсичных дозах, чем те, которые в настоящее время обычно используются в клинических условиях. На мышках, зараженных резистентным к карбапенему *A. baumannii*, выявлена синергическая анти-

бактериальная активность AgNP в сочетании с полимиксином В с выживаемостью 60% по сравнению с контрольной группой, получавшей только антибиотик или только AgNP [81]. Так, помещения ожогового отделения, загрязненные *A. baumannii*, успешно дезинфицировали, используя автоматизированную аэрозольную систему сухого тумана пероксида водорода/катионов серебра [82].

ЛЕЧЕНИЕ ХЕЛАТОРАМИ ЖЕЛЕЗА

Железо – важный кофактор многих процессов в клетках бактерий, что позволяет рассматривать хелаторы железа и его конкурентов в качестве потенциальных антибактериальных агентов. Так называемая хелатная терапия направлена на метаболизм железа и достижение антибактериальной активности путем подавления поступления железа в клетки. У патогенных микроорганизмов существует эффективный механизм получения железа от хозяина с использованием сидерофоров – низкомолекулярных соединений, связывающих железо [83]. Комплекс сидерофор–железо связывается с соответствующими рецепторами на поверхности бактериальной клетки и усваивается там, где железо необходимо для внутриклеточного метаболизма. Большинство сидерофоров – это высокоаффинные хелаторы железа, сродство которых к Fe^{3+} настолько высоко, что они могут использовать организм хозяина как источник железа. Последние годы ведется разработка синтетических хелаторов для конкуренции с системами поглощения железа патогенных микроорганизмов. Показана высокая эффективность *in vitro* хелаторов Aro6619, дигидрохлорида VK28 и 2,2-дипиридила в отношении *A. baumannii* [84]. В качестве новых бактериостатических агентов предложены синтетические хелаторы железа на основе гидроксипиридиноновых лигандов [83]. Получен ряд новых вторичных/третичных амин/амидных хелаторов, и на панели микроорганизмов оценены их антимикробные свойства. Таким образом, хотя установлено, что хелаторы железа могут секвестрировать железо и обеспечивать альтернативный подход к лечению без применения антибиотиков, необходимо их дополнительное изучение и характеристика эффективности *in vivo*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антибиотики можно рассматривать как химическое оружие в межвидовой борьбе микроорганизмов, выработанное за миллионы лет эволюции. Более того, каждый раз, когда в клиническую практику вводили новый антибиотик, бактерии вырабатывали соответствующую сложную стратегию резистентности. Результатом этой непрекращающейся войны стало появление патогенов, вооруженных множествен-

ными механизмами резистентности, таких, как рассматриваемый в настоящем обзоре *A. baumannii*. Успеху выживаемости *A. baumannii* в качестве внутрибольничного патогена способствовала не только высокая степень приспособляемости за счет мутирования и возможности «переключать» свою геномную структуру путем горизонтального переноса генов резистентности, но также врожденная способность к образованию биопленок.

Распространение штаммов с множественной лекарственной устойчивостью требует разработки новых подходов к профилактике и лечению инфекций, вызванных *A. baumannii*, что, в свою очередь, подводит нас к необходимости поиска альтернативных путей лечения, которые в перспективе смогут широко применяться. На сегодняшний день в качестве таких методов предложены: бактериофаговая тера-

пия, профилактическая вакцинация, использование антимикробных пептидов, световая терапия, терапия ионами серебра и хелатная терапия. Тем не менее, для каждого из этих способов профилактики и лечения инфекций, вызванных *A. baumannii* с МЛУ, существуют ограничения, которые необходимо устранить, прежде чем эти способы лечения можно будет применять в клинической практике.

В нашем обзоре рассмотрены существующие направления исследований и перспективы расширения средств борьбы с особо опасными штаммами *A. baumannii*. ●

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ по научному проекту № 17-00-00393.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Boucher H.W., Talbot G.H., Bradley J.S., Edwards J.E., Gilbert D., Rice L.B., Scheld M., Spellberg B., Bartlett J. // *Clin. Infect. Dis.* 2009. V. 48. № 1. P. 1–12.
- Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., Harbarth S., Mendelson M., Monnet D.L., Pulcini C., Kahlmeter G., Kluytmans J., Carmeli Y., et al. // *Lancet Infect.* 2018. V. 18. P. 318–327.
- Mulani M.S., Kamble E.E., Kumkar S.N., Tawre M.S., Pardesi K.R. // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.00539.
- Nemec A., Krizova L., Maixnerova M., van der Reijden T.J., Deschaght P., Passet V., Vaneechoutte M., Brisse S., Dijkshoorn L. // *Res. Microbiol.* 2011. V. 162. P. 393–404.
- Gonzalez-Villoria A.M., Valverde-Garduno V. // *J. Pathogens.* 2016. V. 2016. Article ID 7318075. P. 1–10.
- Zapor M.J., Moran K.A. // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2005. V. 18. № 5. P. 395–399.
- Turton J.F., Kaufmann M.E., Gill M.J., Pike R., Scott P.T., Fishbain J., Craft D., Deye G., Riddell S., Lindler L.E., et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2006. V. 44. № 7. P. 2630–2634.
- Howard A., O'Donoghue M., Feeney A., Sleator R.D. // *Virulence.* 2012. V. 3. P. 243–250.
- Aarabi B. // *Neurosurgery.* 1987. V. 20. P. 610–616.
- Joly-Guillou M.L., Bergogne-Berezin E., Vieu J.F. // *Presse Medicale.* 1990. V. 19. № 8. P. 357–361.
- Petrosillo N., Drapeau C.M., Di Bella S. *Emerging Infectious Disease.* Amsterdam: Elsevier. Acad. Press, 2014. Ch. 20. P. 255–272.
- Vincent J.L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C.D., Moreno R., Lipman J., Gomersall C., Sakr Y., et al. // *J. Am. Med. Assoc.* 2009. V. 302. P. 2323–2329.
- Beijerinck M.W. // *Proc. Royal Acad. Sci. (Amsterdam).* 1911. V. 13. P. 1066–1077.
- Brisou J., Prevot A. // *Ann. l'Institut Pasteur.* 1954. V. 86. № 6. P. 722–728.
- Baumann P., Doudoroff M., Stanier R.Y. // *J. Bacteriol.* 1968. V. 95. P. 1520–1541.
- Bergey D.H., Buchanan R.E., Gibbons N.E., American Society for Microbiology. // *Bergey's manual determinative bacteriology.* Baltimore: Williams & Wilkins Co., 1974. P. 1246.
- Paton R., Miles R.S., Hood J., Amyes S.G., Miles R.S., Amyes S.G. // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 1993. V. 2. № 2. P. 81–87.
- Bouvet P.J., Grimont P.A. // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1986. V. 36. № 2. P. 228–240.
- Hejnar P., Kolár M., Hájek V. // *Acta Univ. Palacki. Olomuc. Fac. Med.* 1999. V. 142. P. 73–77.
- World Health Organization (WHO). Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy.htm/ru/
- Navon-Venezia S., Leavitt A., Carmeli Y. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2007. V. 59. № 4. P. 772–774.
- Transatlantic Taskforce on Antimicrobial Resistance: Progress report. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/tatfar-progress_report_2014.pdf
- World Health Organization (WHO). Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254884/9789244509760-rus.pdf>
- World Health Organization (WHO). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1.
- Wright M.S., Haft D.H., Harkins D.M., Perez F., Hujer K.M., Bajaksouzian S., Benard M.F., Jacobs M.R., Bonomo R.A., Adams M.D. // *mBio.* 2014. V. 5. № 1. P. e00963–13.
- Bjarnsholt T. // *APMIS Suppl.* 2013. V. 136. P. 1–51. doi: 10.1111/apm.12099.
- Batoni G., Masetta G., Esin S. // *Biophys. Acta Biomembr.* 2016. V. 1858. P. 1044–1060.
- Lin Q., Deslouches B., Montelaro R.C., Di Y.P. // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2018. V. 52. P. 667–672.
- Nasr P. // *J. Hosp. Infect.* 2020. V. 104. № 1. P. 4–11.
- Kotay S., Chai W., Guilford W., Barry K., Mathers A.J. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2017. V. 83. P. e03327–16.
- Garnacho-Montero J., Amaya-Villar R., Ferrandiz-Millon C., Diaz-Martin A., Lopez-Sanchez J.M., Gutierrez-Pizarraya A. // *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* 2015. V. 13. P. 769–777.
- Geisinger E., Isberg R.R. // *PLoS Pathog.* 2015. V. 11. P. e1004691.
- Tommasi R., Brown D.G., Walkup G.K., Manchester J.I., Miller A.A. // *Nat. Rev. Drug Discovery.* 2015. V. 14. P. 529–542.
- Fournier P.E., Vallenet D., Barbe V., Audic S., Ogata H.,

- Poirel L., Richet H., Robert C., Mangenot S., Abergel C., et al. // *PLoS Genet.* 2006. V. 2. № 1. P. e7.
35. Roca I., Espinal P., Vila-Farrés X., Vila J. // *Front. Microbiol.* 2012. V. 3. doi: 10.3389/fmicb.2012.00148.
36. Bonnin R.A., Poirel L., Nordmann P. // *Future Microbiol.* 2014. V. 9. P. 33–41.
37. Bernal P., Molina-Santiago C., Daddaoua A., Llamas M.A. // *Microb. Biotechnol.* 2013. V. 6. P. 445–449.
38. Whitehead N.A., Barnard A.M., Slater H., Simpson N.J., Salmond G.P. // *FEMS Microbiol. Rev.* 2001. V. 25. № 4. P. 365–404.
39. Defraigne V., Verstraete L., van Bambeke F., Anantharajah A., Townsend E.M., Ramage G., Corbau R., Marchand A., Chaltin P., Fauvart M., et al. // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. doi: 10.3389/fmicb.2017.02585.
40. Ефименко Т.А., Терехова Л.П., Ефременкова О.В. // *Антибиотики и химиотерапия.* 2019. № 5–6. С. 64–68.
41. Comeau A.M., Hatfull G.F., Krisch H.M., Lindell D., Mann N.H., Prangishvili D. // *Res. Microbiol.* 2008. V. 159. № 5. P. 306–313.
42. Pelfrene E., Willebrand E., Cavaleiro Sanches A., Sebris Z., Cavaleri M. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2016. V. 71. P. 2071–2074.
43. Ghajavand H., Esfahani B.N., Havaei A., Fazeli H., Jafari R., Moghim S. // *Res. Pharm. Sci.* 2017. V. 12. P. 373–380.
44. Федотова О.С., Захарова Ю.А. // *Медицинский альманах.* 2018. Т. 1. С. 126–129.
45. Hua Y., Luo T., Yang Y., Dong D., Wang R., Wang Y., Xu M., Guo X., Hu F., He P. // *Front. Microbiol.* 2018. V. 8. doi: 10.3389/fmicb.2017.02659.
46. Cha K., Oh H.K., Jang J.Y., Jo Y., Kim W.K., Ha G.U., Ko K.S., Myung H. // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. doi: 10.3389/fmicb.2018.00696.
47. Zhou W., Feng Y., Zong Z. // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. doi: 10.3389/fmicb.2018.00850.
48. Shivaswamy V.C., Kalasuramath S.B., Sadanand C.K., Basavaraju A.K., Ginnavaram V., Bille S., Ukken S.S., Pushparaj U.N. // *Microb. Drug Resist.* 2015. V. 21. P. 171–177.
49. Regeimbal J.M., Jacobs A.C., Corey B.W., Henry M.S., Thompson M.G., Pavlicek R.L., Quinones J., Hannah R.M., Ghebremedhin M., Crane N.J., et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016. V. 60. P. 5806–5816.
50. Schooley R.T., Biswas B., Gill J.J., Hernandez-Morales A., Lancaster J., Lessor L., Barr J.J., Reed S.L., Rohwer F., Benler S., et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017. V. 61. № 10. P. e00954–17.
51. Liu Y., Mi Z., Niu W., An X., Yuan X., Liu H., Wang Y., Feng Y., Huang Y., Zhang X., et al. // *Future Microbiol.* 2016. V. 11. P. 1383–1393.
52. Hatfull G.F. // *Bacteriophage Genomics. Curr. Opin. Microbiol.* 2008. V. 11. № 5. P. 447–453.
53. Lai M.J., Chang K.C., Huang S.W., Luo C.H., Chiou P.Y., Wu C.C., Lin N.T. // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 4. e0153361. doi: 10.1371/journal.pone.0153361.
54. Lin H., Paff M.L., Molineux I.J., Bull J.J. // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. doi: 10.3389/fmicb.2017.02257.
55. Pan Y.J., Lin T.L., Chen Y.Y., Lai P.H., Tsai Y.T., Hsu C.R., Hsieh P.F., Lin Y.T., Wang J.T. // *Microb. Biotechnol.* 2019. V. 12. № 3. P. 472–486.
56. Hernandez-Morales A.C., Lessor L.L., Wood T.L., Migl D., Mijalis E.M., Cahill J., Russell W.K., Young R.F., Gill J.J. // *J. Virol.* 2018. V. 92. № 6. e01064–17. doi: 10.1128/JVI.01064-17.
57. Liu Y., Leung S.S.Y., Guo Y., Zhao L., Jiang N., Mi L., Li P., Wang C., Qin Y., Mi Z., et al. // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.00545.
58. Zhang J., Xu L.L., Gan D., Zhang X. // *Clin. Lab.* 2018. V. 64. P. 1021–1030.
59. Lin N.T., Chiou P.Y., Chang K.C., Chen L.K., Lai M.J. // *Res. Microbiol.* 2010. V. 161. P. 308–314.
60. Lee I.M., Tu I.F., Yang F.L., Ko T.P., Liao J.H., Lin N.T., Wu C.Y., Ren C.T., Wang A.H.J., Chang C.M., et al. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. doi: 10.1038/srep42711.
61. Lee I.M., Yang F.L., Chen T.L., Liao K.S., Ren C.T., Lin N.T., Chang Y.P., Wu C.Y., Wu S.H. // *J. Am. Chem. Soc.* 2018. V. 140. P. 8639–8643.
62. Shahid F., Ashraf S.T., Ali A. // *Methods Mol. Biol.* 2019. V. 1946. P. 329–336.
63. McConnell M.J., Rumbo C., Bou G., Pachón J. // *Vaccine.* 2011. V. 29. P. 5705–5710.
64. Fattahian Y., Rasooli I., Mousavi Gargari S.L., Rahbar M.R., Darvish Alipour Astaneh S., Amani J. // *Microb. Pathog.* 2011. V. 51. P. 402–406.
65. Lei L., Yang F., Zou J., Jing H., Zhang J., Xu W., Zou Q., Zhang J., Wang X. // *Mol. Biol. Rep.* 2019. V. 46. P. 5397–5408.
66. Phoenix D.A., Dennison S.R., Harris F. // *Antimicrobial Peptides: Their History, Evolution, and Functional Promiscuity / Singapore: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2013. P. 231.*
67. Kang H., Kim C., Seo C.H., Park Y. // *J. Microbiol.* 2017. V. 55. P. 1–12.
68. Мусин Х.Г. // *Инфекция и иммунитет.* 2018. Т. 8. № 3. С. 295–308.
69. Жаркова М.С., Орлов Д.С., Кокряков В.Н., Шамова О.В. // *Вестник СПбГУ.* 2014. Сер. 3. Вып. 1. С. 98–114.
70. Pfalzgraff A., Brandenburg K., Weindl G. // *Front. Pharmacol.* 2018. V. 9. doi: 10.3389/fphar.2018.00281.
71. Gaglione R., Dell’Olmo E., Bosso A., Chino M., Pane K., Ascione F., Itri F., Caserta S., Amoresano A., Lombardi A., et al. // *Biochem. Pharmacol.* 2017. V. 130. P. 34–50.
72. Ma Y.X., Wang C.Y., Li Y.Y., Li J., Wan Q.Q., Chen J.H., Tay F.R., Niu L.N. // *Adv. Sci. (Weinh).* 2019. V. 7. № 1. P. 1901872.
73. Du H., Puri S., McCall A., Norris H.L., Russo T., Edgerton M. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017. V. 7. doi: 10.3389/fcimb.2017.00041.
74. de la Fuente-Nunez C., Reffuveille F., Haney E.F., Straus S.K., Hancock R.E. // *PLoS Pathog.* 2014. V. 10. № 5. P. e1004152.
75. Chen H.L., Su P.Y., Kuo S.C., Lauderdale T.L.Y., Shih C. // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. doi: 10.3389/fmicb.2018.01440.
76. de Breijl A., Riool M., Cordfunke R.A., Malanovic N., de Boer L., Koning R.I., Ravensbergen E., Franken M., van der Heijde T., Boekema B.K., et al. // *Sci. Transl. Med.* 2018. V. 10. № 423. P. eaan4044.
77. Rishi P., Vashist T., Sharma A., Kaur A., Kaur A., Kaur N., Kaur I.P., Tewari R. // *Pathog. Dis.* 2018. V. 76. doi: 10.1093/femspd/fty072.
78. Huang J.X., Bishop-Hurley S.L., Cooper M.A. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012. V. 56. P. 4569–4582.
79. Irani N., Basardeh E., Samiee F., Fateh A., Shooraj F., Rahimi A., Shahcheraghi F., Vaziri F., Masoumi M., Pazhouhandeh M., et al. // *Microb. Pathog.* 2018. V. 121. P. 310–317.
80. Halstead F.D., Thwaite J.E., Burt R., Laws T.R., Raguse M., Moeller R., Webber M.A., Oppenheim B.A. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2016. V. 82. P. 4006–4016.
81. Wan G., Ruan L., Yin Y., Yang T., Ge M., Cheng X. // *Int. J. Nanomed.* 2016. V. 11. P. 3789–3800.
82. Cobrado L., Pinto S.A., Pina-Vaz C., Rodrigues A. // *Surg Infect (Larchmt).* 2018. V. 19. P. 541–543.
83. Workman D.G., Hunter M., Wang S., Brandel J., Hubscher V., Dover L.G., Tétard D. // *Bioorganic Chem.* 2020. V. 95. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.103465.
84. Thompson M.G., Corey B.W., Si Yuan., Craft D.W., Zurawski D.V. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012. V. 56. P. 5419–5421.