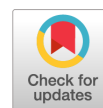


АДГЕЗИВНОСТЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БАКТЕРИОФАГОВ К КЛЕТКАМ ИЕРСИНИЙ, ОЦЕНЕННАЯ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ЛОВУШКИ



И.В. Коньшев^{1,2}, Л.Г. Дудина^{1,2}, Н.А. Морозова², А.А. Бывалов^{1,2}

¹ ФГБУН Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар, Россия

² ФБОУ ВО Вятский государственный университет, г. Киров, Россия

Резюме. В последние годы возрастает интерес к использованию бактериофагов в комплексной терапии некоторых инфекционных заболеваний. Объективно это связано с распространением антибиотикорезистентности и малым числом побочных эффектов при местном и парентеральном назначении фагов. Бактерии рода *Yersinia* не являются исключением из этого правила, однако начальные стадии их взаимодействия с вирионами подробно не изучены. В России в диагностических целях применяются три вида литических иерсиниозных бактериофагов, различающихся по специфичности, вирулентности, морфологическим свойствам. Мы оценили силу взаимодействия в системе «фаг–бактерия» методом лазерной ловушки. *Материалы и методы.* В работе использовали живые клетки *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia pestis*, различные по структуре ЛПС, и препараты трех иерсиниозных бактериофагов — Покровской, L-413С и д’Эрреля (псевдотуберкулезного диагностического). Фаг Покровской хорошо изучен и широко применяется в диагностике, однако механизм его адсорбции на клетках *Y. pestis* практически не изучен. Высокоспецифичный фаг L-413С лизирует чумные бактерии, но не псевдотуберкулезные, в то время как фаг д’Эрреля вирулентен для бактерий обоих видов. Вирионы наносили на поверхность аминированных стеклянных подложек. Микробные клетки, захваченные лазерной ловушкой, подводили к поверхности, обработанной фагами, до их соприкосновения, после чего их отводили в обратном направлении, добиваясь разрыва связи. Амплитуду сигнала пересчитывали в силу через калибровочные коэффициенты. Первичные данные обрабатывали в программе «R»; статистический анализ проводили с использованием пакетов «Matlab 7.0» и «Statistica 12». *Результаты и обсуждение.* Анализ гистограмм распределения силы, необходимой для разрыва связи, выявил присутствие специфического компонента в паре «*Y. pseudotuberculosis*–фаг д’Эрреля» ($F_{cp} = 7,46 \pm 3,52$ пН), а также во всех парах с участием чумного микроба. В последнем случае сила связи оказалась сопоставимой с вышеуказанной и составила: для фага д’Эрреля — $8,64 \pm 3,83$ пН, для фага Покровской — $11,03 \pm 4,22$ пН, для фага L-413С — $10,42 \pm 4,79$ пН. Средняя сила отрыва от подложки, обработанной бычьим сывороточным альбумином (БСА) сопоставима для обоих типов клеток. Проведенные эксперименты свидетельствуют о возможности использования метода оптической ловушки для оценки силовых характеристик взаимодействия в системе «бактерия–фаг».

Ключевые слова: бактериофаг, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia pestis*, сенсбилизация, лазерная ловушка.

Адрес для переписки:

Бывалов Андрей Анатольевич
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36, каб. 513а,
Вятский государственный университет.
Тел.: 8 (8332) 64-50-69. E-mail: byvalov@nextmail.ru

Contacts:

Andrey A. Byvalov
610000, Russian Federation, Kirov, Moskovskaya str., 36,
Vyatka State University.
Phone: +7 (8332) 64-50-69. E-mail: byvalov@nextmail.ru

Для цитирования:

Коньшев И.В., Дудина Л.Г., Морозова Н.А., Бывалов А.А. Адгезивность специфических бактериофагов к клеткам иерсиний, оцененная методом лазерной ловушки // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 3. С. 573–578. doi: 10.15789/2220-7619-AOT-2086

Citation:

Konyshov I.V., Dudina L.G., Morozova N.A., Byvalov A.A. Adhesiveness of the specific phages to yersiniae cells assessed by optical trapping // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 3, pp. 573–578. doi: 10.15789/2220-7619-AOT-2086

Исследования проведены в рамках темы НИР ИФ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН FUUU-2022-0065 (№ 1021051201894-0), а также гранта Президента РФ для молодых кандидатов наук (№ МК-3383.2021.1.4).

The research was conducted within the framework of the research topic FUUU-2022-0065 (No. 1021051201894-0) of the Komi Science Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, and the grant of the President of the Russian Federation for young candidates of sciences (No. MK-3383.2021.1.4).

ADHESIVENESS OF THE SPECIFIC PHAGES TO YERSINIAE CELLS ASSESSED BY OPTICAL TRAPPINGKonyshev I.V.^{a,b}, Dudina L.G.^{a,b}, Morozova N.A.^b, Byvalov A.A.^{a,b}^a *Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russian Federation*^b *Vyatka State University, Kirov, Russian Federation*

Abstract. In recent years, there has been increasing interest in using bacteriophages in the complex therapy of some infectious diseases. Objectively, it is related to the spread of antibiotic resistance and a small number of side effects triggered by phages applied locally and parenterally. Yersinia are no exception to this rule, but their interaction with virions has not been studied thoroughly. In Russia, three types of lytic Yersinia bacteriophages are used for diagnostic purposes, which differ in specificity, virulence, and morphological features. We evaluated the interaction force between phages and bacteria by optical trapping. *Materials and methods.* Live *Yersinia pseudotuberculosis* and *Y. pestis* cells with different LPS structure and preparations of three bacteriophages — Pokrovskaya's phage, d'Herelle's phage (also named as the pseudotuberculosis phage) and the phage L-413C were used. The Pokrovskaya's phage is well studied and widely used in diagnostics, but the mechanism of its adsorption on *Y. pestis* and *Y. pseudotuberculosis* cells is not well-understood. The phage L-413C lyses plague bacteria, while d'Herelle's phage can lyse both pathogens. Virions were linked to the surface of aminated glass. Optically trapped microbial cells were approached to the glass surface and then retracted in the opposite direction. The amplitude of the leap was recalculated into force through calibration coefficients. The primary data were processed in the program "R"; statistical analysis was performed using "Matlab 7.0" and "Statistica 12" *Results and discussion.* The analysis of histograms revealed the presence of a specific component in the «*Y. pseudotuberculosis*–d'Herelle's phage» ($F_{\text{mean}} = 7.46 \pm 3.52$ pN) system, as well as in all pairs involving plague microbe. In the latter case, the interaction forces were comparable: 8.64 ± 3.83 pN for d'Herelle's phage, 11.03 ± 4.22 pN for Pokrovskaya's phage, and 10.42 ± 4.79 pN for phage L-413C. The average detachment force from the substrate treated with bovine serum albumin (BSA) was comparable for both cell types. Our results convincingly prove an opportunity for using the optical trapping to estimate interaction force in other «bacterium–phage» systems.

Key words: phage, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia pestis*, sensitization, laser trap.

Введение

Род *Yersinia* включает три вида патогенных для человека грамотрицательных бактерий: *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis*. Первые два вида являются энтеропатогенами, входными воротами для которых служит слизистая тонкого кишечника. Передаваясь алиментарным путем (с загрязненной пищей или водой), они вызывают сочетанный энтероколит с поражением Пейеровых бляшек и регионарных лимфатических узлов, нередко переходящий в хроническую форму [12, 15]. У пациентов с иммунодефицитными состояниями отмечается генерализованная септическая форма, смертность от которой составляет около 50% для кишечного иерсиниоза [5] и более 75% для псевдотуберкулеза [6]. Бактерии *Y. pestis* вызывают тяжелое системное заболевание, передаваемое либо через укусы блох, либо аэрогенно.

Наряду с симптоматическими средствами в терапии иерсиниозов успешно применяются антибиотики — главным образом цефалоспорины, макролиды и фторхинолоны. В последние годы описаны случаи резистентности иерсиний к препаратам налидиксовой кислоты [4]; ампициллину, левомицетину, тетрациклину [11] и доксициклину [3]. В связи с этим актуальна разработка новых, в том числе комбинированных, схем лечения бактериальных инфекций, основанных на использовании бактериофагов наряду с антибиотиками.

Преимуществами фаготерапии можно считать ее высокую специфичность, малую вероятность возникновения побочных эффектов, сохранение нормофлоры кишечника и слизистых оболочек [14]. Разработка средств фаготерапии предполагает проведение всесторонних исследований, включающих изучение механизмов взаимодействия бактериофагов с бактериальной клеткой в условиях *in vitro* и *in vivo*. Это в первую очередь касается идентификации структур на поверхности бактериальной клетки и фаговой частицы, ответственных за их взаимодействие, выявления условий, способствующих такому взаимодействию, количественной оценки силы формируемой связи. Последнее необходимо при обосновании качественного и количественного состава средств фаготерапии, которые, как считается, следует создавать в виде «коктейлей», состоящих из нескольких типов фагов, что должно обеспечивать антибактериальную активность препарата в отношении широкого спектра вирулентных штаммов возбудителя.

В настоящее время известен ряд специфичных в отношении *Y. pestis* литических бактериофагов, которые потенциально могут быть использованы для лечения чумы [7]. Один из них, бактериофаг д'Эрреля, в 20-х гг. прошлого века был успешно применен для лечения бубонной чумы — после введения препарата фага непосредственно в бубоны все четверо больных выздоровели [16]. В связи с разработкой промыш-

ленной технологии эффективных антибиотиков отпала необходимость применения фаготерапии инфекционных заболеваний. Однако появление и распространение в последние десятилетия антибиотикоустойчивости многих бактериальных патогенов, в том числе и *Y. pestis*, вновь возродило интерес к использованию фаготерапии. Появляются работы, свидетельствующие об эффективности применения чумных фагов в отношении бубонной (фаг ФА1122) [9] и первично-легочной (фаги ФА1122 и PST) [16] форм чумы.

В России в диагностических целях применяются три вида литических иерсиниозных бактериофагов — Покровской, L-413С и псевдотуберкулезный диагностический, различающихся по специфичности, вирулентности, морфологическим свойствам. Эти фаги мы и использовали в настоящей работе для оценки их адгезивности к клеткам *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*.

Бактериофаг Покровской (семейство *Podoviridae*) считается высоковирулентным в отношении *Y. pestis* [17]. Он также способен лизировать от 6,1 до 19% штаммов псевдотуберкулезного микроба [2]. Рецептор адгезии этого фага расположен на участке HerIII/HerII–HerI/Glc кора ЛПС клеток *Y. pestis* [2].

Бактериофаг L-413С (семейство *Myoviridae*) генетически близок энтеробактериофагу P2 [13]. Из числа чумных фагов считается наиболее специфичным, лизируя подавляющее большинство штаммов *Y. pestis* и не взаимодействуя с клетками *Y. pseudotuberculosis* [2]. Имеет сократимый хвост и изометрическую головку. Рецептор связывания расположен на участке кора ЛПС HerIII/HerII(GlcNAc)–HerI/Glc [7].

Бактериофаг псевдотуберкулезный диагностический (или d'Herelle-m по Filippov и соавт. [8]) относится к семейству *Podoviridae*. Способен лизировать штаммы *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis*. Рецептор связывания на поверхности клеток не установлен [10].

Цель работы заключалась в исследовании силы связи между бактериями рода *Yersinia* и специфическими фагами с использованием лазерной ловушки.

Материалы и методы

Штаммы. В работе использовали клетки *Y. pseudotuberculosis* (серотип O1b из коллекции ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (кат. № 474)) и вакцинный штамм EV *Y. pestis* из коллекции ООО «Агровет», а также бактериофаги диагностический чумной Покровской, диагностический чумной L-413С и диагностический псевдотуберкулезный производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

Культивирование бактерий. Для оценки силовых характеристик взаимодействия в системе

«бактериофаг–бактериальная клетка» методом лазерной ловушки культуры *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* выращивали на чашках Петри с БТН-агаром («Биотехновация», Россия) в течение ночи при температуре 37°C либо в течение двух суток при температуре 27°C соответственно.

Определение титра бактериофага проводили методом агаровых слоев Грациа [1] с незначительными модификациями. Готовили серию десятикратных разведений бактериофага в буфере SM (0,58% NaCl, 0,2% MgSO₄ × 7H₂O, 0,05 M Tris-HCl, pH 7,5). В стеклянных пробирках смешивали 1 мл соответствующего разведения бактериофага и 100 мкл суспензии бактерий тест-штамма в концентрации (2–3) × 10⁸ м.к./мл. Для адсорбции фаговых частиц на бактериальные клетки пробирки термостатировали на водяной бане при температуре 37°C в течение 20 мин для псевдотуберкулезного диагностического бактериофага, либо в течение 10 мин — для бактериофага Покровской. Затем в пробирки наливали по 3 мл 1,5% БТН-агара (Биотехновация, Россия), предварительно нагретого до температуры 47°C. Содержимое пробирки перемешивали интенсивным вращением в ладонях и выливали на чашки Петри с предварительно подсушенным нижним 3% БТН-агаром. Подсчет бляшек проводили для *Y. pseudotuberculosis* через 17–20 ч культивирования при температуре 37°C, для *Y. pestis* штамма EV — через 40–48 ч при температуре 27°C.

Сенсибилизация подложек вирионами фагов. Использовали пластиковые чашки «Fluorodish» (WPI, Германия) со стеклянным дном, которые предварительно подвергали процедуре аминирования. Для этого в отдельной емкости смешивали 10 мкл триэтиламина (Реахим, Россия) и 30 мкл 3-аминопропил-триэтоксисилана (APTES) (Sigma Aldrich, США), после чего помещали ее вместе с чашками в эксикатор и выдерживали в атмосфере аргона в течение 1,5 ч. Далее на поверхность чашек наносили последовательно 0,6 мкл EDC (Sigma Aldrich, США), 900 мкл фосфатного буферного раствора (ФБР), 30 мкл 0,46%-ного раствора N-гидроксисукцинимиды (Sigma Aldrich, США) и 100 мкл суспензии того или иного фага в концентрации 1 × 10¹¹ БОЕ/мл. Инкубировали чашки 2 ч при комнатной температуре, пятикратно промывали деионизованной водой и блокировали 1%-ным раствором БСА на ФБР 1 ч. Повторяли промывку, осушали и хранили чашки в закрытом эксикаторе при температуре 4–6°C. Чашку «БСА» готовили так же, добавляя вместо фаговых препаратов равный объем 1%-ного БСА в ФБР.

Лазерный пинцет. Для оценки сил взаимодействия в модельной системе «микросфера — подложка» использовали лазерный пинцет JPK Nanotracker™ (JPK, Германия) на основе

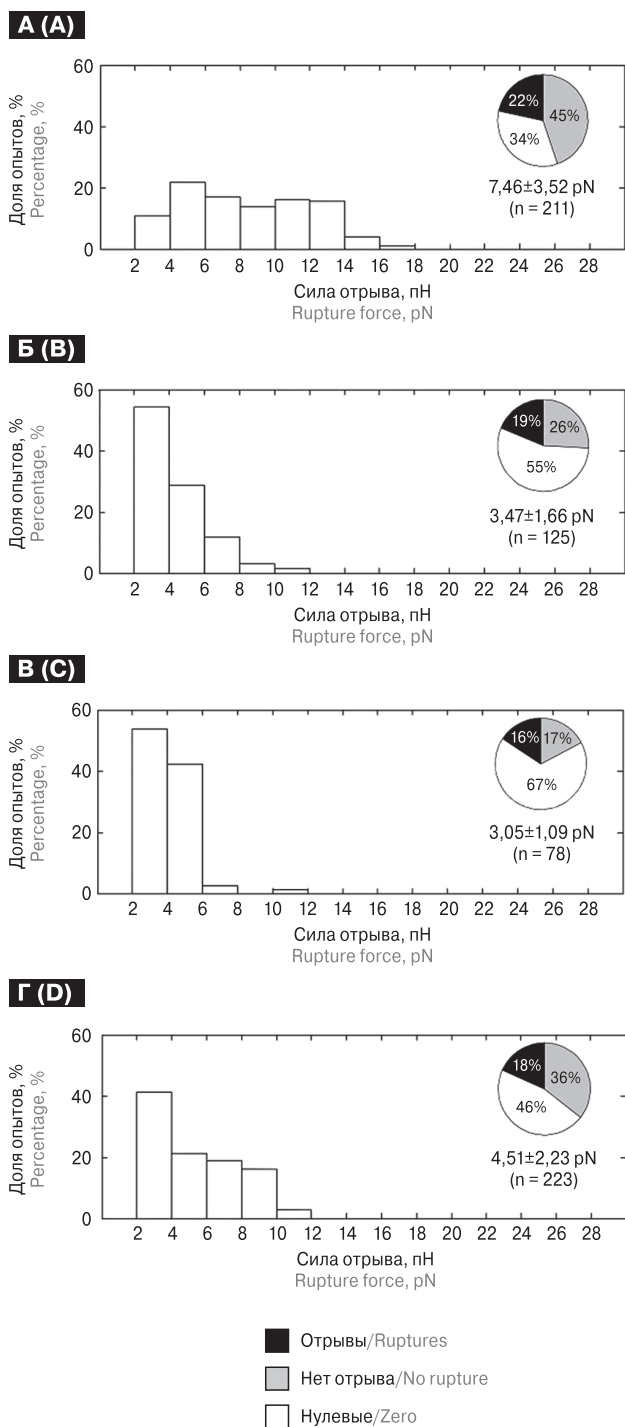


Рисунок 1. Гистограммы распределения сил отрыва в системе «бактериофаг–бактериальная клетка» с указанием их средних значений и соотношения исходов взаимодействия для клеток *Y. pseudotuberculosis*

Figure 1. Histograms of rupture forces distribution in the «phage–bacterium» system with average values and outcomes ratio for *Y. pseudotuberculosis* cells

Примечание. А — фаг д'Эрреля, Б — фаг Покровской, В — фаг L-413С, Г — БСА.

Note. А — d'Errel's phage, В — Pokrovskaya's phage, С — phage L-413С, D — BSA.

итрий-гранатового источника инфракрасного излучения ($\lambda = 1064$ нм). Непосредственно перед проведением эксперимента в чашку «Fluorodish», сенсibilизированную одним из трех бактериофагов, приливали 2,5 мл ФБР и 2–4 мкл микробной суспензии в концентрации 6×10^9 м.к./мл. Тщательно перемешивали содержимое чашки и устанавливали ее на термостатируемую платформу с температурой $+37^\circ\text{C}$.

Методика оценки сил межмолекулярного взаимодействия включала захват бактерий лазерной ловушкой при мощности лазера 1,2 Вт. Бактериальную клетку подводили ко дну чашки таким образом, чтобы расстояние между ними составляло около 1 мкм. С помощью пьезостолика прецизионно перемещали чашку в направлении неподвижной клетки с шагом 20 нм до момента их соприкосновения, который определяли по трем последовательным скачкам на хронограмме сигнала. Спустя 1 с после остановки запускали процесс отведения пьезостолика в обратном направлении в полуавтоматическом режиме со скоростью около 150 нм/с. Момент разрыва связи детектировали по скачкообразному изменению сигнала на хронограмме. Для пересчета первичного сигнала детектора в единицы силы применяли полученные ранее для полистирольных микросфер $d = 1$ мкм калибровочные коэффициенты чувствительности детектора (6,4 мВ/нм) и жесткости ловушки (0,26 пН/нм).

Первичные данные сохраняли в виде текстовых файлов, которые затем обрабатывали с использованием специализированного программного обеспечения JPK Processing. Статистический анализ проводили с использованием пакетов программ R, MatLab 7.0 и Statistica 12.

Результаты и обсуждение

Гистограммы распределения сил разрыва связи между фагами трех штаммов и клетками двух видов иерсиний приведены на рис. 1 и 2. При использованных условиях эксперимента возможны три варианта исхода измеряемого взаимодействия: 1 — разрыв формируемой связи, 2 — «залипание» микробной клетки на поверхности покрытого бактериофагом дна чашки, когда мощности ловушки недостаточно для разрыва связи, 3 — чрезвычайно слабое связывание, когда скачок сигнала отсутствует или не превосходит уровень «шума». На рис. 1 и 2 эти исходы обозначены как «отрывы», «нет отрыва» и «нулевые» соответственно.

Существенные отличия в средней силе отрыва от стекла, покрытого разными фагами, отмечены для клеток *Y. pseudotuberculosis*, которые, как видно из рис. 1, специфически связывались

только с фагом д'Эрреля ($F_{ср.} = 7,46 \pm 3,52$ пН). В остальных группах значение показателя составило $4,51 \pm 2,23$ пН (в группе «БСА»), а для двух других фагов было даже меньше — $3,05 \pm 1,09$ пН для фага L-413С и $3,47 \pm 1,66$ пН для фага Покровской. Средняя сила связи для чашки, обработанной фагом д'Эрреля, оказалась достоверно ($p < 0,01$) выше по сравнению с чашками, покрытыми двумя другими фагами и БСА. Доля «нулевых» исходов оказалась заметно выше для фагов L-413С (67%) и Покровской (55%), чем для фага д'Эрреля (34%). Доля зафиксированных отрывов в указанных группах менялась слабо и составила 16–22%. В контрольных группах («фаг Покровской», «L-413С», «БСА») более 80% отрывов лежали в диапазоне от 2 до 8 пН, в то время как в группе «фаг д'Эрреля» гистограмма смешалась вправо, достигая диапазона 16–18 пН.

Иная картина наблюдалась при работе с клетками *Y. pestis*. Средняя сила отрыва для чашек, обработанных тремя фагами, была выше сил, отмеченных для клеток *Y. pseudotuberculosis* (рис. 1, 2). Ожидаемо высокой была доля необратимых связываний для «фаговых» подложек (46–60%) против 32% для «БСА». «Нулевые» опыты преобладали только в группе «БСА» (57%), в остальных случаях доля таких событий не превышала 25% («фаг Покровской») или была заметно ниже («фаг д'Эрреля»). Гистограммы при использовании трех фагов отличались незначительно (рис. 2).

Таким образом, нами дана количественная оценка силы взаимодействия клеток двух видов иерсиний со специфическими бактериофагами методом оптической ловушки. Представленные результаты подтверждают данные литературы о высокой специфичности фагов Покровской и L-413С и неспособности фага д'Эрреля дифференцировать два близкородственных вида иерсиний — *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, полученные с помощью микробиологических методов [8].

В настоящее время механизмы полного цикла взаимодействия микробной клетки иерсиний и специфических бактериофагов изучены недостаточно. В доступной литературе нет сведений об оценке адгезии фагов к поверхности иерсиний методом оптической ловушки. Ранее лазерный пинцет применялся лишь для изучения молекулярных взаимодействий между отдельными вирионами и минеральными подложками либо клетками эукариот. Предстоят дальнейшие исследования и начальных стадий такого взаимодействия, в том числе первичного контакта фага с рецепторным аппаратом бактерии с использованием молекулярно-генетических, иммунохимических, микробиологических, биофизических методов с целью разработки новых средств фаготерапии.

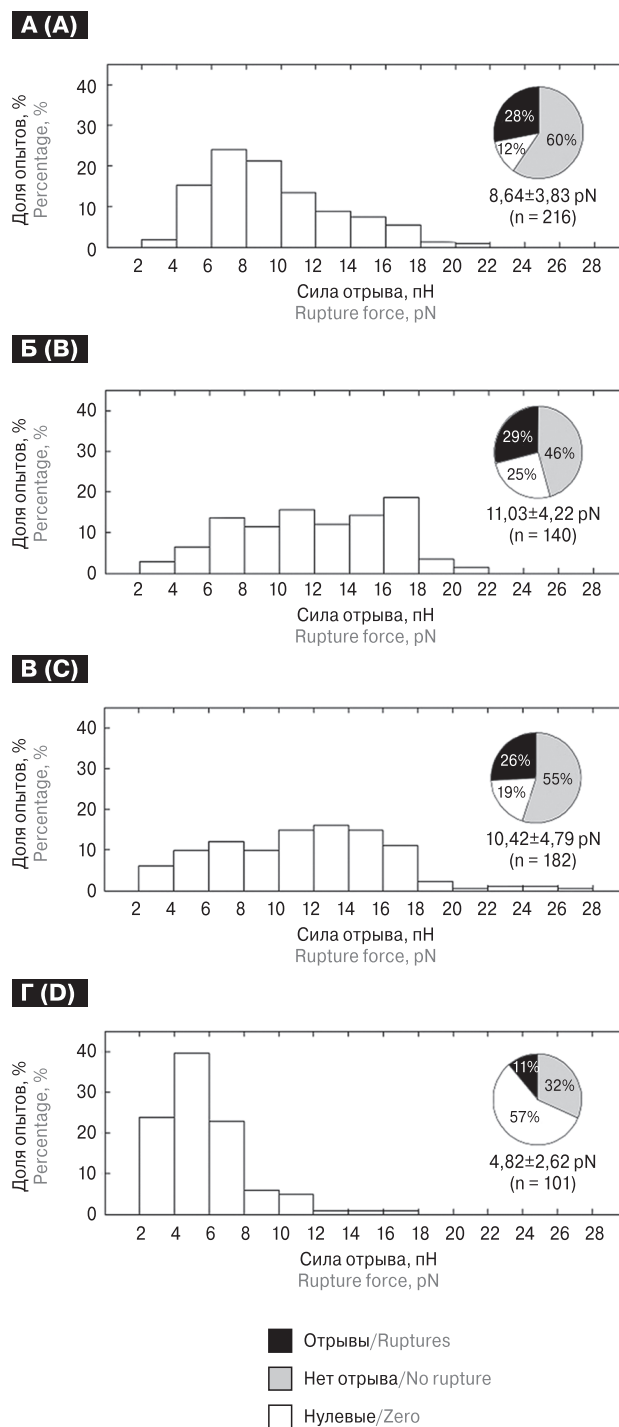


Рисунок 2. Гистограммы распределения сил отрыва с указанием их средних значений и соотношения исходов взаимодействия для клеток *Y. pestis* EV

Figure 2. Histograms of rupture forces distribution in the «phage–bacterium» system with average values and outcomes ratio for *Y. pestis*

Примечание. А — фаг д'Эрреля, Б — фаг Покровской, В — фаг L-413С, Г — БСА.

Note. А — d'Errel's phage, В — Pokrovskaya's phage, С — phage L-413С, D — BSA.

Список литературы/References

1. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина, 1978. 394 с. [Labin-skaia A.S. Microbiology and methods of microbiology. Moscow: Meditsina, 1978. 394 p. (In Russ.)]
2. Филиппов А.А., Эллиотт Дж.М., Бобров А.Г., Кириллина О.А., Мотин В.Л., Чейн П.С., Гарсия Э. Определение нуклеотидной последовательности генома чумного диагностического бактериофага L-413C // Проблемы особо опасных инфекций. 2005, № 2. С. 49–52. (Filippov A.A., Elliott J.M., Bobrov A.G., Kirillina O.A., Motin V.L., Cheyne P.S., Garcia E. Determination of the nucleotide sequence of the genome of the plague diagnostic bacteriophage L-413C. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2005, no. 2, pp. 49–52. (In Russ.))
3. Cabanel N., Bouchier C., Rajerison M., Carniel E. Plasmid-mediated doxycycline resistance in a *Yersinia pestis* strain isolated from a rat. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2008, vol. 51, pp. 249–254. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.09.015
4. Capilla S., Ruiz J., Goñi P., Castillo J., Rubio M.C., Jiménez de Anta M.T., Gómez-Lus R., Vila J. Characterization of the molecular mechanisms of quinolone resistance in *Yersinia enterocolitica* O:3 clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2004, vol. 53, pp. 1068–1071. doi: 10.1093/jac/dkh22.5
5. Cover T.L., Aber R.C. *Yersinia enterocolitica*. *N. Engl. J. Med.*, 1989, vol. 321, pp. 16–24. doi: 10.1056/NEJM198907063210104
6. Deacon A.G., Hay A., Duncan J. Septicemia due to *Yersinia pseudotuberculosis* — a case report. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2003, vol. 9, pp. 1118–1119. doi: 10.1046/j.1469-0691.2003.00746.x
7. Filippov A.A., Sergueev K.V., He Y., Huang X.-Z., Gnade B.T., Mueller A.J., Fernandez-Prada C.M., Nikolich M.P. Bacteriophage-resistant mutants in *Yersinia pestis*: identification of phage receptors and attenuation for mice. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 9: e25486. doi: 10.1371/journal.pone.0025486
8. Filippov A.A., Sergueev K.V., He Y., Nikolich M.P. Bacteriophages capable of lysing *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis*: efficiency of plating tests and identification of receptors in *Escherichia coli* K-12. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2012, pp. 123–134. doi: 10.1007/978-1-4614-3561-7_16
9. Filippov A.A., Sergueev K.V., He Y., Huang X.Z., Gnade B.T., Mueller A.J., Fernandez-Prada C.M., Nikolich M.P. Bacteriophage therapy of experimental bubonic plague in mice. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2012, vol. 954, pp. 337–348. doi: 10.1007/978-1-4614-3561-7_41
10. Filippov A.A., Sergueev K.V., Nikolich M.P. Can phage effectively treat multidrug-resistant plague? *Bacteriophage*, 2012, vol. 2, pp. 186–189. doi: 10.4161/bact.22407
11. Galimand M., Carniel E., Courvalin P. Resistance of *Yersinia pestis* to antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, vol. 50, pp. 3233–3236. doi: 10.1128/AAC.00306-06
12. Galindo C.L., Rosenzweig J.A., Kirtley M.L., Chopra A.K. Pathogenesis of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in Human Yersiniosis. *J. Pathog.*, 2011: 182051. doi: 10.4061/2011/182051
13. Garcia E., Chain P., Elliott J.M., Bobrov A.G., Motin V.L., Kirillina O., Lao V., Calendar R., Filippov A.A. Molecular characterization of L-413C, a P2-related plague diagnostic bacteriophage. *Virology*, 2008, vol. 372, no. 1, pp. 85–96. doi: 10.1016/j.virol.2007.10.032
14. Górski A., Międzybrodzki R., Jończyk-Matysiak E., Borysowski J., Letkiewicz S., Weber-Dąbrowska B. The fall and rise of phage therapy in modern medicine. *Expert. Opin. Biol. Ther.*, 2019, vol. 19, pp. 1115–1117. doi: 10.1080/14712598.2019.1651287
15. Hill A.A., Diehl G.E. The infectious cause of the chronic effect. *Cell Host Microbe*, 2015, vol. 18, pp. 383–385. doi: 10.1016/j.chom.2015.09.011
16. Vagima Y., Gur D., Aftalion M., Moses S., Levy Y., Makovitzki A., Holtzman T., Oren Z., Segula Y., Fatelevich E., Tidhar A., Zauberman A., Rotem S., Mamroud E., Steinberger-Levy I. Phage therapy potentiates second-line antibiotic treatment against pneumonic plague. *Viruses*, 2022, vol. 14: 688. doi: 10.3390/v14040688
17. Zhao X., Skurnik M. Bacteriophages of *Yersinia pestis*. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2016, vol. 918, pp. 361–375. doi: 10.1007/978-94-024-0890-4_13

Авторы:

Конышев И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии микроорганизмов ФГБУН Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар, Россия; доцент кафедры биотехнологии Института биологии и биотехнологии ФБОУ ВО Вятский государственный университет, г. Киров, Россия;

Дудина Л.Г., к.б.н., доцент кафедры биотехнологии Института биологии и биотехнологии ФБОУ ВО Вятский государственный университет, г. Киров, Россия; младший научный сотрудник лаборатории физиологии микроорганизмов Института физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар, Россия;

Морозова Н.А., студент, магистрант кафедры биотехнологии Института биологии и биотехнологии ФБОУ ВО Вятский государственный университет, г. Киров, Россия;

Бывалов А.А., д.м.н., профессор, старший научный сотрудник Центра превосходства «Фармацевтическая биотехнология» ФБОУ ВО Вятский государственный университет, г. Киров, Россия; зав. лабораторией физиологии микроорганизмов Института физиологии ФГБУН Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар, Россия.

Authors:

Konyshev I.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Microbial Physiology, Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russian Federation; Associate Professor, Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;

Dudina L.G., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation; Junior Researcher, Laboratory of Microbial Physiology, Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russian Federation;

Morozova N.A., MD Student, Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;

Byvalov A.A., DSc (Medicine), Professor, Senior Researcher, Center of Excellence "Pharmaceutical Biotechnology", Vyatka State University, Kirov, Russian Federation; Head of the Laboratory of Microbial Physiology, Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russian Federation.