

## RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,  
o texto completo desta dissertação  
será disponibilizado somente a partir  
de 06/03/2026.

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

---

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LÍTICO DE ENDOLISINAS PRODUZIDAS POR  
FAGOS DE *Xanthomonas citri***

**MARIO NICOLAS CACCALANO**

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

---

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LÍTICO DE ENDOLISINAS PRODUZIDAS POR  
FAGOS DE *Xanthomonas citri*

MARIO NICOLAS CACCALANO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

**Orientador:** Dr. Henrique Ferreira

C118a

Cacalano, Mario Nicolas

Avaliação do potencial lítico de endolisinas produzidas por fagos de xanthomonas citri / Mario Nicolas Cacalano. -- Rio Claro, 2024

81 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Henrique Ferreira

1. Cancro cítrico. 2. Bacteriófago. 3. Enzima. 4. Peptidoglicano. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LÍTICO DE ENDOLISINAS PRODUZIDAS POR FAGOS DE *Xanthomonas citri*

**AUTOR: MARIO NICOLAS CACCALANO**

**ORIENTADOR: HENRIQUE FERREIRA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. HENRIQUE FERREIRA (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Unesp - IB Rio Claro

Prof. Dr. GUILHERME DILARRI (Participação Virtual)  
Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas / Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Profa. Dra. ALINE MARIA DA SILVA (Participação Virtual)  
Departamento de Bioquímica / USP

Rio Claro, 06 de março de 2024

“Without error there can be no brilliancy”

— **Emanuel Lasker**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à FAPESP, pelo apoio financeiro através do processo nº2022/01814-0, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), que permitiu a realização desse trabalho.

Agradeço ao meu orientador Henrique Ferreira por toda ajuda e ensinamento durante minhas iniciações científicas e agora durante o meu mestrado.

Agradeço aos membros do LGB – Caio, Natalia, Giovane, Vitor, Victor, Rayanne, Gabriel, João, Igor, Guilherme, Giovanna.

Agradeço meus pais Danilo e Tânia, ao meu irmão Matias.

Agradeço meus amigos Natalia, Talita, Juliana, Lourenço, Gustavo.

Agradeço ao grupo de pesquisa do professor Carlos Henrique Inacio Ramos e ao aluno Leonardo Alves Linhares pela ajuda com os ensaios de Dicroísmo Circular.

## RESUMO

O cancro cítrico é uma doença causada pela bactéria Gram-negativa *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*). Essa bactéria é responsável por diversas perdas na produção de citrus. Assim o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de endolisinas de bacteriófagos como possíveis antimicrobianos *anti - X. citri*. Seleccionamos 4 genes, dois de cada bacteriófago, para isolamento e construção de sistemas de expressão heteróloga em bactérias. Para os genes do bacteriófago CP1 não fomos capazes de realizar a amplificação por PCR de nenhum dos genes seleccionados. Para os dois genes seleccionados do bacteriófago CP2, conseguimos amplificar ambos, mas não observamos expressão aparente da endolisina CP2\_29-His. Conseguimos, entretanto, expressar e purificar a proteína His-CP2\_07. Com a caracterização estrutural por meio do dicroísmo circular (CD), observamos presença de cerca de 40,8% de alfa-hélices. Além disso, realizamos ensaios de estabilidade térmica na faixa de 20 °C a 90 °C, onde observamos perda de estrutura a partir dos 50 °C. Entretanto, com o resfriamento da amostra, observamos um possível ganho de estrutura ocasionado por provável re-enovelamento da proteína. Avaliamos a atividade enzimática da endolisina, onde observamos a degradação de fragmentos celulares de *Pseudomonas aeruginosa*, bem como degradação do peptidoglicano purificado de *Bacillus subtilis*. Observamos também ação bactericida da endolisina em *X. citri*, bem como de outros isolados de interesse clínico (*P. aeruginosa* e *E. coli*). Avaliamos também a lise celular de *X. citri* tratadas com a His-CP2\_07 e EDTA 0,375 mM. Estabelecemos a estabilidade de nossa endolisina em pHs próximos ao neutro ou levemente alcalinos e salinidades próximas de 60 mM. Desta forma, nossos resultados demonstram o potencial bactericida de His-CP2\_07 contra *X. citri* e abre caminho para o desenvolvimento de formulações alternativas para controle desta bactéria, bem como de outras bactérias de interesse clínico.

**Palavras-chave:** Cancro-cítrico; Bacteriófagos; Enzima, Peptidoglicano

## ABSTRACT

Citrus canker is a disease caused by the Gram-negative bacterium *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*). This bacteria is responsible for several losses in citrus production. Thus, the objective of the present work was to evaluate the potential of bacteriophage endolysins as possible anti-*X. citri* antimicrobials. We selected 4 genes, two from each bacteriophage, for isolation and construction of heterologous expression systems in bacteria. For the CP1 bacteriophage genes, we were unable to perform PCR amplification of any of the selected genes. For the two genes selected from bacteriophage CP2, we were able to amplify both, but we did not observe apparent expression of the CP2\_29-His endolysin. We were, however, able to express and purify the His-CP2\_07 protein. With structural characterization using circular dichroism (CD), we observed the presence of around 40.8% alpha-helices. Furthermore, we carried out thermal stability tests in the range of 20 °C to 90 °C, where we observed loss of structure from 50 °C onwards. However, as the sample cooled, we observed a possible gain in structure caused by probable refolding of the protein. We evaluated the enzymatic activity of endolysin, where we observed the degradation of cellular fragments of *Pseudomonas aeruginosa*, as well as degradation of peptidoglycan purified from *Bacillus subtilis*. We also observed the bactericidal action of endolysin in *X. citri*, as well as other isolates of clinical interest (*P. aeruginosa* and *E. coli*). We also evaluated cell lysis of *X. citri* treated with His-CP2\_07 and 0.375 mM EDTA. We established the stability of our endolysin at pHs close to neutral or slightly alkaline and salinities close to 60 mM. Thus, our results demonstrate the bactericidal potential of His-CP2\_07 against *X. citri* and paves the way for the development of alternative formulations to control this bacterium, as well as other bacteria of clinical interest.

**Keywords:** Citrus canker; Bacteriophages; Enzyme, Peptidoglycan

## Sumário

1 INTRODUÇÃO .....	9
1.1 Importância da Citricultura .....	9
1.2 Bacteriófagos .....	10
1.3 Estrutura do peptidoglicano .....	11
1.4 Endolisinas.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1 Bacteriófagos como alternativa ao combate a isolados de interesse clínico .....	15
2.2 Uso de bacteriófagos na agricultura e como forma de aumentar o shelf-life de alimentos ...	17
2.3 Endolisinas como forma de controle antimicrobiano em alimentos .....	18
2.4 Endolisinas como forma de combate a isolados de interesse clínico .....	19
3 OBJETIVOS .....	21
3.1 Objetivo geral.....	21
3.2 Objetivos específicos .....	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1 Linhagens bacterianas e condições de cultivo .....	22
4.2 Propagação e manutenção dos bacteriófagos.....	23
4.3 Procedimentos gerais de biologia molecular .....	24
4.4 Bioinformática: busca por genes candidatos.....	25
4.5 Modelagem in silico das endolisinas .....	25
4.6 Desenho dos primers.....	25
4.7 Amplificação dos genes do bacteriófago CP1 .....	26
4.8 Amplificação dos genes do bacteriófago CP2 .....	28
4.9 Condições de expressão da endolisina His-CP2_07 e CP2_29-His .....	29
4.10 Condições de purificação da endolisina .....	29
4.11 Quantificação proteica.....	30
4.12 Avaliação da atividade das endolisinas .....	30
4.13 Dicroísmo Circular (CD) e estabilidade térmica .....	31
4.14 Purificação e coloração do extrato bruto de peptidoglicano de <i>X. citri</i> .....	31
4.15 Avaliação da ação do NaCl e pH na atividade enzimática .....	32
4.16 Purificação do peptidoglicano de <i>B. subtilis</i> e avaliação da atividade enzimática .....	33
4.17 Avaliação do efeito bactericida da endolisina .....	34
4.18 Curva de crescimento com endolisina e EDTA .....	34
4.19 Análise estatística e construção dos gráficos .....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36

5.1 Propagação dos bacteriófagos .....	36
5.2 Avaliação da estrutura e classificação das endolisinas .....	37
5.2.1 Gene CP1_30 .....	37
5.2.2 Gene CP1_21 .....	38
5.2.3 Gene CP2_07 .....	39
5.2.4 Gene CP2_29 .....	40
5.3 Clonagem das endolisinas .....	41
5.3.1 Amplificação dos genes do bacteriófago CP1 .....	41
5.3.2 Amplificação e clonagem dos genes do bacteriófago CP2 .....	41
5.4 Expressão das endolisinas .....	46
5.4.1 Expressão da endolisina His-CP2_07 .....	46
5.4.2 Expressão da endolisina CP2_29-His .....	48
5.5 Purificação da proteína His-CP2_07.....	49
5.6 Potencial de degradação do peptidoglicano de <i>P. aeruginosa</i> pela endolisina His-CP2_07.....	50
5.7 Avaliação da estrutura da His-CP2_07 por dicroísmo circular (CD) .....	51
5.8 Avaliação da estabilidade térmica da endolisina His-CP2_07.....	52
5.9 Estabilidade da endolisina em diferentes concentrações de NaCl.....	56
5.10 Estabilidade da endolisina em diferentes pHs.....	57
5.11 Avaliação da atividade enzimática da endolisina His-CP2_07 em peptidoglicano purificado de <i>B. subtilis</i> .....	58
5.12 Avaliação da atividade bactericida da endolisina His-CP2_07 .....	59
5.13 Curva de crescimento com <i>X. citri</i> .....	65
6.0 CONCLUSÃO .....	67
7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Importância da Citricultura

A citricultura é uma atividade econômica que gera diversos empregos no setor agrícola, apresentando assim uma alta importância na economia brasileira (Neves, 2010). Atualmente o Brasil é líder mundial na produção de laranjas doce com produção estimada de 309,34 milhões de caixas referente a safra 2023/2024 (FUNDECITRUS, 2023). O Brasil é responsável por 80% do total de suco de laranja exportado do mundo. E somente a região sudeste é responsável por mais de 70% da produção de laranjas do país, o que se deve à enorme produtividade da citricultura no estado de São Paulo (IBGE, 2016).

Apesar disso, essa produção é constantemente ameaçada por diversas doenças infecciosas, dentre elas, o cancro cítrico e o huanglongbing (HLB) que juntas já tomam 30-40% das árvores do cinturão citrícola brasileiro (FUNDECITRUS). O cancro cítrico é causado pela bactéria Gram-negativa *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*), classificada como Proteobactérias. *X. citri* é aeróbia obrigatória, possui morfologia de bastonetes e apresenta um flagelo polar (DAS, 2003). O cancro cítrico é uma doença que acomete todas as variedades de citros de importância econômica (GOTTWALD et al., 2002). A infecção e doença ocorre quando a bactéria penetra o tecido vegetal através dos estômatos e lesões vegetais, causando a queda prematura de frutos e desfolha quando em alta severidade (GOTTWALD et al., 2002). Lesões causadas pelo cancro são superficiais e não interferem no uso da fruta para produção de suco. Contudo, os frutos sintomáticos perdem o valor como fruto de mesa e, portanto, há uma depreciação no seu valor agregado. A disseminação do fitopatógeno ocorre principalmente pela ação da chuva e do vento, podendo ser exacerbada pela larva minador dos citros, que ao se alimentar do mesófilo foliar produz galerias facilitando a infecção (CHAGAS, 2001).

A principal forma de manejo do cancro cítrico hoje no estado de São Paulo é feita através da aplicação recorrente de soluções à base de cobre, como o oxiclóreto de cobre e hidróxido de cobre, bem como uso de quebras-vento para conter a disseminação da doença, uso de mudas sadias para início de pomares e controle da larva minadora dos citros. Contudo, as formulações a base de cobre apresentam toxicidade para animais, vegetais e para a microbiota do solo (FONES & PRESTON 2013; BRUNETTO et al.,

2016; CORNU et al., 2017;). Em plantas, o excesso de cobre é capaz de causar estresse oxidativo através da formação de espécies reativas de oxigênio (YRUELA, 2009; RAVET & PILON, 2013;). Conseqüentemente, há a degradação de diversas proteínas e enzimas celulares que podem acarretar na inibição do crescimento vegetal (YRUELA, 2009). Plantas sujeitas a altas concentrações de cobre podem apresentar sintomas como clorose e necrose dos tecidos vegetais (DUCIC & POLLE, 2005). Finalmente, já houve relatos de isolados de *Xanthomonas* resistentes a esses compostos (BEHLAU et al., 2013). Sendo assim, se faz necessária a buscar por novas alternativas ao cobre para o combate desse fitopatógeno.

## 1.2 Bacteriófagos

Na biosfera existem cerca de  $10^{31}$  partículas virais, presentes em diversos ambientes e ecossistemas, tendo papel fundamental na dinâmica de diversas populações nesses ambientes (STONE et al., 2019). Os vírus são capazes de infectar diversos organismos como bactérias, archaea e eucariontes (SUTTLE, 2007). Dentro da população viral, há um grupo de vírus que tem como hospedeiro as bactérias, são os chamados bacteriófagos (O'SULLIVAN et al., 2019). Ao injetarem seu material genético na célula hospedeira, os bacteriófagos se multiplicam usando a própria maquinaria celular bacteriana (SHARMA et al., 2017).

De maneira geral, os bacteriófagos são compostos por uma cabeça icosaédrica, na qual se encontra o material genético, que é normalmente um DNA de fita dupla, ligada a uma cauda longa, que pode ser contrátil ou não (NORTH & DAVIDSON, 2021). A cauda tem a função de canal de transporte do material genético viral para a célula hospedeira (NOBREGA et al., 2018). O reconhecimento do hospedeiro é feito mediante a interação de proteínas da cauda do bacteriófago e antígenos de superfície da bactéria hospedeira (processo denominado de adsorção) (NOBREGA et al., 2018).

Os bacteriófagos são geralmente classificados em relação ao tipo de ácido nucléico que possuem, sua morfologia, modo de infecção, filogenia, sua especificidade ao hospedeiro, sensibilidade a agentes físicos e químicos, bem como ao ambiente que é encontrado (ACKERMANN, 2009). Sua propagação ocorre de duas formas: por ciclo lítico ou lisogênico. No ciclo lítico, os fagos causam a lise das células bacterianas hospedeiras para liberar a progênie viral produzida durante infecção (YOUNG, 2002).

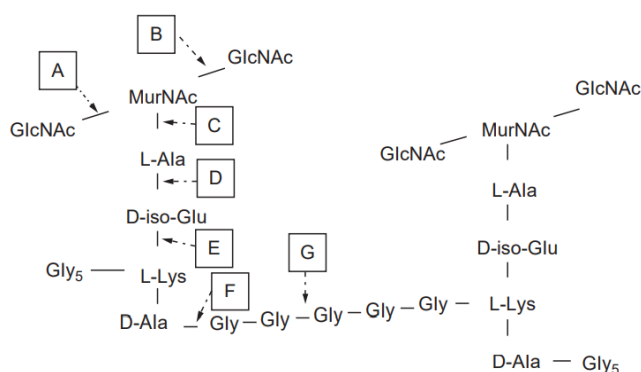
Para tal, fazem uso de enzimas (endolisinas) capazes de quebrar o peptidoglicano. Já no ciclo lisogênico, há a integração do material genético do fago no genoma do hospedeiro, que é replicado em conjunto com o DNA do hospedeiro (EREZ et al., 2017).

### **1.3 Estrutura do peptidoglicano**

O peptidoglicano é uma estrutura que circunda a membrana celular bacteriana, oferece rigidez a célula e serve de moldura para a fixação de diversas proteínas e outros polímeros. Esta auxilia na manutenção da forma celular e permite a passagem de algumas substâncias químicas por difusão (PAZOS & PETERS, 2019). O peptidoglicano é uma estrutura tridimensional formada por uma porção peptídica e uma porção de açúcar (glicano). O peptidoglicano é um polímero que alterna o ácido-N-acetilmurâmico (MurNAc) e o N-acetilglicosamina (GlcNAc). Esses resíduos são ligados através de uma ligação beta (1-4) (figura 1) (Nelson et al.,2012). Essa cadeia é ligada covalentemente à cadeia peptídica através de uma ligação amida entre o MurNAc e a L-alanina, o primeiro aminoácido da cadeia peptídica. O restante dessa cadeia peptídica é formado por formas L e D alternadas de aminoácidos que variam de bactéria para bactéria (NELSON et al.,2012).

Nas bactérias Gram-negativas e em algumas bactérias Gram-positivas como o gênero *Bacillus*, há a presença de um resíduo do Ácido diaminopimélico na terceira posição da cadeia peptídica. Em contrapartida, na maior parte das Gram-positivas, essa posição é ocupada por uma L-lisina (NELSON et al.,2012).

**Figura 1** - Representação esquemática da estrutura do peptidoglicano (PG) de *Staphylococcus aureus*. **A** - N-acetilglicosaminidase hidrolisa o componente glicano da PG no lado redutor do GlcNAc. **B** - N-acetil muramidase (também conhecida como "muramidase" ou "lisozima") hidrolisa o componente glicano do PG no lado redutor do MurNAc. Da mesma forma, as transglicosilases líticas quebram a mesma ligação, mas formam intermediários N-acetil-1,6-anidromuramil durante a clivagem. **C** - A amidase N-acilmuramoil-L-alanina cliva uma ligação amida entre a parte glicana (MurNAc) e a parte peptídica (L-alanina) da parede celular. **D-G** - Uma endopeptidase cliva uma ligação amida entre os aminoácidos. Adaptado de NELSON et al.,2012.



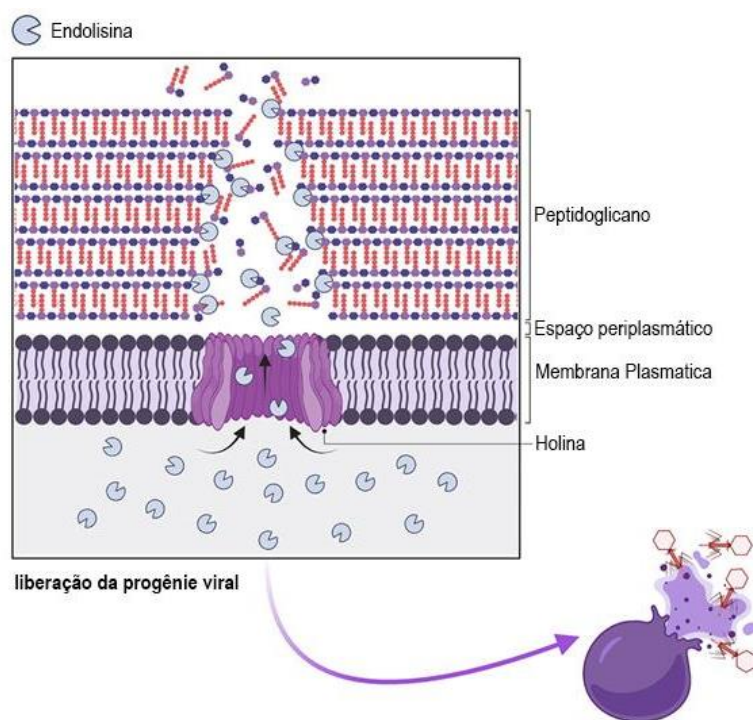
Por conta da alta taxa de conservação da estrutura do peptidoglicano entre os organismos, há um número limitado de sítios de clivagem para endolisinas e outras hidrolases (NELSON et al.,2012).

#### 1.4 Endolisinas

Endolisinas são enzimas capazes de degradar o peptidoglicano presente na parede celular bacteriana. O primeiro relato de sua atividade ocorreu com a própria descoberta dos bacteriófagos por Frederick W (TWORT & LOND, 1915). Essas enzimas podem ser encontradas em quase todos os bacteriófagos (SCHMELCHER & LOESSNER, 2016). Elas são produzidas durante o ciclo lítico destes vírus (SCHMELCHER et al., 2012) e degradam a parede celular bacteriana de dentro para fora das células (STONE et al., 2019). De maneira geral, as endolisinas são agrupadas em 4 principais classes e mecanismos de lise do peptidoglicano. São elas as glicosidases, as endopeptidases, as amido hidrolases e as transglicosilases. As glicosidases clivam a região glicana do peptidoglicano no lado redutor do GlcNAc (Figura 1 A). Outra glicosidase cliva o peptidoglicano no lado redutor do MurNAc (Figura 1 B).

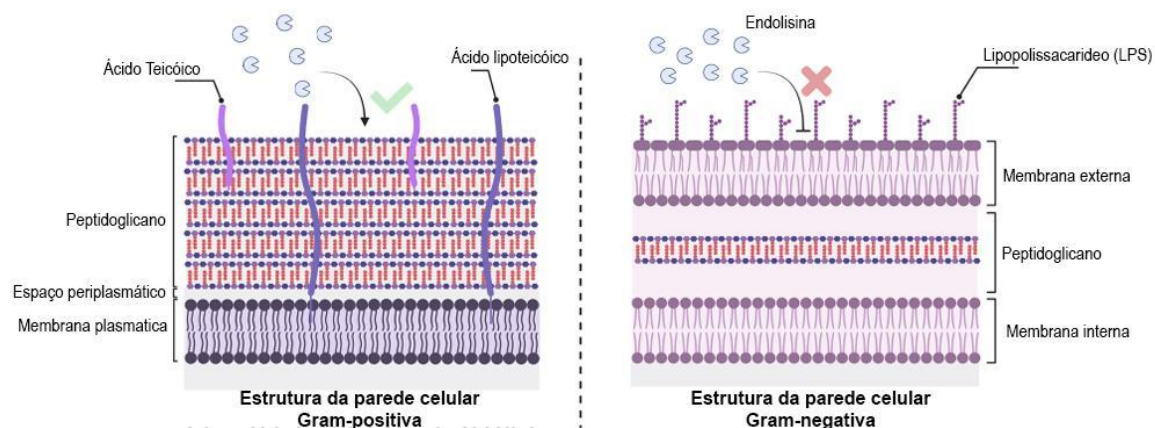
A segunda classe são as denominadas amido hidrolases que clivam uma ligação amida entre a cadeia glicana (MurNAc) e a cadeia peptídica (L-alanina) do peptidoglicano (figura 1C). A terceira classe são as endopeptidases que clivam as ligações peptídicas entre os aminoácidos (figura 1 D-1 G). Por fim, a última classe de endolisinas são as transglicosilases que não são verdadeiras hidrolases por não precisarem de água para realizar a clivagem do substrato (Nelson et al.,2012). Essas enzimas são bastante semelhantes às muraidases já que também clivam a ligação beta (1-4) entre os resíduos de N-acetilmuramico e N-acetilglicosamina (Figura 1 B).

**Figura 2** – Esquema de lise celular por endolisinas. No fim do ciclo há liberação de holinas que formam poros na membrana plasmática da célula permitindo que as endolisinas acessem o peptidoglicano e o degradem. Adaptado de CARRATALÁ et al., 2023.



Para a liberação da progênie viral, diversas proteínas são produzidas no interior da bactéria. As endolisinas são responsáveis pela quebra do peptidoglicano (figura 2). Entretanto, em bactérias Gram-negativas, por conta da membrana externa, o acesso das endolisinas ao peptidoglicano é dificultado (figura 3). Desta forma, para acessar o peptidoglicano, há a produção de uma outra proteína denominada holina que causa poros na membrana permitindo o acesso das endolisinas ao peptidoglicano (figura 2) (CARRATALÁ et al., 2023).

**Figura 3** – Ação da endolisina em diferentes bactérias. Em Gram-negativas, a presença da membrana externa dificulta o acesso das endolisinas ao peptidoglicano. Ao mesmo tempo, em bactérias Gram-positivas, por não apresentarem membrana externa, o acesso ao peptidoglicano é facilitado. Adaptado de CARRATALÁ et al., 2023.



As endolisinas apresentam uma estrutura monomérica ou globular (STONE et al., 2019). Em bactérias Gram-positivas, as endolisinas apresentam múltiplos domínios, incluindo domínios de ligação à parede celular, já em Gram-negativas, como é o caso da *X. citri*, são quase sempre pequenas com apenas um domínio enzimático (SCHMELCHER & LOESSNER, 2016). O uso dessas enzimas se estende em diversos setores como na agricultura, biotecnologia, medicina e controle de contaminantes em alimentos (SCHMELCHER & LOESSNER 2016; STONE et al., 2019; ÖZAL et al., 2022).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar uma endolisina codificada por bacteriófagos de *X. citri* (presentes na coleção do grupo) quanto ao seu potencial para controle de crescimento e prevenção de infecção causada por esta bactéria.

## 6.0 CONCLUSÃO

Foi possível identificar a partir do sequenciamento e anotação do genoma dos bacteriófagos CP1 e CP2 quatro prováveis endolisinas. A estrutura teórica dessas endolisinas foi avaliada por modelagem *in silico*. Contudo apenas as endolisinas do bacteriófago CP2 puderam ser amplificadas por PCR e isoladas para ensaios posteriores. As endolisinas do bacteriófago CP1 não foram amplificadas, provavelmente por erros de sequenciamento/anotação. A endolisina His-CP2\_07 foi expressa em *E. coli* T7 *express* e purificada por cromatografia de afinidade. Já em relação à expressão da CP2\_29-His não observamos expressão aparente. Quanto à caracterização da endolisina His-CP2\_07 ela aparenta ser termoestável com maior conteúdo de alfa-hélice e estruturas não definidas. Avaliamos a estabilidade da endolisina em diferentes pHs e salinidades. Nos ensaios de atividade realizados, a endolisina His-CP2\_07 apresentou atividade contra peptidoglicano de *P. aeruginosa* e *B. subtilis*. Observamos ação bactericida da endolisina na presença de EDTA contra *X. citri*, *P. aeruginosa* e *E. coli*. Observamos lise celular de *X. citri* na presença da endolisina e EDTA, indicando então o potencial dessa endolisina para controle desse fitopatógeno.

## 7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELRAHMAN, Fatma et al. Pseudomonas Phage ZCPS1 Endolysin as a Potential Therapeutic Agent. **Viruses**, v. 15, n. 2, p. 520, 2023.
- ABEBE, Gedif Meseret. The role of bacterial biofilm in antibiotic resistance and food contamination. **International journal of microbiology**, v. 2020, 2020.
- ACKERMANN, Hans-W. Phage classification and characterization. **Bacteriophages: Methods and protocols, volume 1: Isolation, characterization, and interactions**, p. 127-140, 2009.
- AHMAD, Abdelmonim Ali et al. Characterization of bacteriophages Cp1 and Cp2, the strain-typing agents for *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 77-85, 2014.
- ALISKY, J. et al. Bacteriophages show promise as antimicrobial agents. **Journal of Infection**, v. 36, n. 1, p. 5-15, 1998.
- ALVES, Diana R. et al. A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses *Pseudomonas aeruginosa* biofilms under static and flow conditions. **Microbial biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 61-74, 2016.
- BARBER, Mary et al. Infection by Penicillin-Resistant *Staphylococci*. **Lancet**, p. 641-4, 1948.
- BEETON, M. L. et al. Assessing phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* using a *Galleria mellonella* infection model. **International journal of antimicrobial agents**, v. 46, n. 2, p. 196-200, 2015.
- BEHLAU, Franklin et al. Copper resistance genes from different *Xanthomonas* and citrus epiphytic bacteria confer resistance to *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 133, p. 949-963, 2012.
- BEHLAU, Franklin et al. Evidence for acquisition of copper resistance genes from different sources in citrus-associated *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 103, n. 5, p. 409-418, 2013.
- BOCANOVA, Lucia et al. A novel phage-encoded endolysin EN534-C active against clinical strain *Streptococcus agalactiae* GBS. **Journal of Biotechnology**, v. 359, p. 48-58, 2022.
- BRICKNER, Steven J. et al. Synthesis and antibacterial activity of U-100592 and U-100766, two oxazolidinone antibacterial agents for the potential treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections. **Journal of medicinal chemistry**, v. 39, n. 3, p. 673-679, 1996.
- BRUNETTO, Gustavo et al. Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. **Chemosphere**, v. 162, p. 293-307, 2016.
- CARRASCOSA, Conrado et al. Microbial biofilms in the food industry—A comprehensive review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 04, p. 2014, 2021.
- CARRATALÁ, Jose Vicente et al. Design strategies for positively charged endolysins: Insights into Artilysin development. **Biotechnology Advances**, p. 108250, 2023.
- CARVER, Tim et al. Artemis: an integrated platform for visualization and analysis of highthroughput sequence-based experimental data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 4, p. 464-469, 2012.
- CHAGAS, Marcone et al. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and its relationship with the citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 55-59, 2001.

- CHANISHVILI, Nina. Phage therapy—history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. **Advances in virus research**, v. 83, p. 3-40, 2012.
- CHATEAU, Alice; SCHNEEWIND, Olaf; MISSIAKAS, Dominique. Extraction and purification of wall-bound polymers of Gram-positive bacteria. **Bacterial Polysaccharides: Methods and Protocols**, p. 47-57, 2019.
- CHEGINI, Zahra et al. Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: A review. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 19, p. 1-17, 2020.
- CHIBEU, Andrew et al. Efficacy of bacteriophage LISTEX™ P100 combined with chemical antimicrobials in reducing *Listeria monocytogenes* in cooked turkey and roast beef. **International journal of food microbiology**, v. 167, n. 2, p. 208-214, 2013.
- CORNU, Jean-Yves et al. Bioremediation of copper-contaminated soils by bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 1-9, 2017.
- CORRÊA, Daniel HA; RAMOS, Carlos HI. The use of circular dichroism spectroscopy to study protein folding, form and function. **African Journal of Biochemistry Research**, v. 3, n. 5, p. 164-173, 2009.
- D'ANDREA, Marco Maria et al. The lytic bacteriophage vB\_EfaH\_EF1TV, a new member of the Herelleviridae family, disrupts biofilm produced by *Enterococcus faecalis* clinical strains. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 21, p. 68-75, 2020.
- D'HERELLE, F. H. Comptes Rendu. **Acad. Sci. Paris**, v. 165, p. 373-375, 1917.
- DA SILVA, A. C. et al. Trindade dos. **SM, Truffi, D., Tsai, SM, White, FF, Setubal, JC and Kitajima, JP**, p. 459-463, 2002.
- DANIS-WLODARCZYK, Katarzyna M.; WOZNIAC, Daniel J.; ABEDON, Stephen T. Treating bacterial infections with bacteriophage-based enzybiotics: *in vitro*, *in vivo* and clinical application. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1497, 2021.
- DAS, A. K. Citrus canker-A review. **Journal of Applied Horticulture**, v. 5, n. 1, p. 52-60, 2003.
- DONG, Hongling et al. Antibacterial Activity of *Stenotrophomonas maltophilia* Endolysin P28 against both Gram-positive and Gram-negative Bacteria. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1299, 2015.
- DUCIC, Tanja; POLLE, Andrea. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 103-112, 2005.
- DÜRING, Klaus et al. Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora*. **The Plant Journal**, v. 3, n. 4, p. 587-598, 1993.
- ELHALAG, Kamel et al. Potential use of soilborne lytic Podoviridae phage as a biocontrol agent against *Ralstonia solanacearum*. **Journal of basic microbiology**, v. 58, n. 8, p. 658-669, 2018.
- ENDERSEN, Lorraine et al. Characterisation of the antibacterial properties of a bacterial derived peptidoglycan hydrolase (LysCs4), active against *C. sakazakii* and other Gram-negative food-related pathogens. **International journal of food microbiology**, v. 215, p. 79-85, 2015.
- EREZ, Z.; STEINBERGER-LEVY, I.; SHAMIR, M. Doron S1, Stokar-Avihail A, Peleg Y, Melamed S, Leavitt A, Savidor A, Albeck S, Amitai G y Sorek R (2017) Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. **Nature**, v. 541, p. 488-493.
- FONES H.; PRESTON GM. (2013) The impact of transition metals on bacterial plant disease. **FEMS Microbiol Rev** 37(4):495-519 doi:10.1111/1574-6976.12004

FUNDECITRUS, “Safr de Laranja 2023/24 Do Cinturão Citricola de SP e MG é Estimada em 309,34 milhoes de Caixas” Fundecitrus, [www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/safra-de-laranja-202324-do-cinturao-citricola-de-sp-e-mg-e-estimada-em-30934-milhoes-de-caixas/1317](http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/safra-de-laranja-202324-do-cinturao-citricola-de-sp-e-mg-e-estimada-em-30934-milhoes-de-caixas/1317). Acesso 16 Janeiro. 2024.

GHANEM, Bothyna; HADDADIN, Randa Nayef. Multiple drug resistance and biocide resistance in *Escherichia coli* environmental isolates from hospital and household settings. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2018.

GONDIL, Vijay Singh; HARJAI, Kusum; CHHIBBER, Sanjay. Endolysins as emerging alternative therapeutic agents to counter drug-resistant infections. **International journal of antimicrobial agents**, v. 55, n. 2, p. 105844, 2020.

GOTTWALD, Tim R.; GRAHAM, James H.; SCHUBERT, Tim S. Citrus canker: the pathogen and its impact. **Plant health progress**, v. 3, n. 1, p. 15, 2002.

GOUVÊA, Delaine Meireles et al. Acetate cellulose film with bacteriophages for potential antimicrobial use in food packaging. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 85-91, 2015.

HAUSBECK, M. K. et al. Effect of bactericides on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomatoes in the greenhouse and on disease development and crop yield in the field. **Phytopathology**, v. 90, n. 1, p. 38-44, 2000.

HANLON, Geoffrey William. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. **International journal of antimicrobial agents**, v. 30, n. 2, p. 118-128, 2007.

HESELPOTH, Ryan D.; EULER, Chad W.; FISCHETTI, Vincent A. PaP1, a broad-spectrum lysin-derived cationic peptide to treat polymicrobial skin infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 817228, 2022.

HOLTAPPELS, Dominique et al. Protection of phage applications in crop production: A patent landscape. **Viruses**, v. 11, n. 3, p. 277, 2019.

IBGE IBdGE (2016) Produção Agrícola Municipal. Publisher. [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam\\_2016\\_v43\\_br.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2016_v43_br.pdf)

JAMAL, Muhsin et al. Bacteriophages: an overview of the control strategies against multiple bacterial infections in different fields. **Journal of basic microbiology**, v. 59, n. 2, p. 123-133, 2019.

JEONG, Tae-Hwan et al. Characterization of Three Different Endolysins Effective against Gram-Negative Bacteria. **Viruses**, v. 15, n. 3, p. 679, 2023.

JUN, Soo Youn et al. Antibacterial properties of a pre-formulated recombinant phage endolysin, SAL-1. **International journal of antimicrobial agents**, v. 41, n. 2, p. 156-161, 2013.

KAUR, Jasjeet et al. A potent enzymatic against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Virus genes**, v. 56, p. 480-497, 2020.

KHALIFA, Leron et al. Defeating antibiotic-and phage-resistant *Enterococcus faecalis* using a phage cocktail in vitro and in a clot model. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 326, 2018.

KHALIFA, Leron et al. Targeting *Enterococcus faecalis* biofilms with phage therapy. **Applied and environmental microbiology**, v. 81, n. 8, p. 2696-2705, 2015.

KIM, Shukho et al. LysSAP26, a new recombinant phage endolysin with a broad spectrum antibacterial activity. **Viruses**, v. 12, n. 11, p. 1340, 2020.

- KIMMELSHUE, Chad; GOGGI, A. Susana; CADEMARTIRI, Rebecca. The use of biological seed coatings based on bacteriophages and polymers against *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* in maize seeds. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 17950, 2019.
- KIRBY, William MM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant *Staphylococci*. **Science**, v. 99, n. 2579, p. 452-453, 1944.
- KUSRADZE, Ia et al. Characterization and testing the efficiency of *Acinetobacter baumannii* phage vB-GEC\_Ab-M-G7 as an antibacterial agent. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1590, 2016.
- KUTYSHENKO, Victor P. et al. Comparative analysis of the active sites of orthologous endolysins of the *Escherichia* lytic bacteriophages T5, RB43, and RB49. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 166, p. 1096-1105, 2021.
- LEACH KL et al. The site of action of oxazolidinone antibiotics in living bacteria and in human mitochondria. **Mol Cell** 26(3):393-402 doi:10.1016/j.molcel.2007.04.005
- LEE, Mijoon et al. Exolytic and endolytic turnover of peptidoglycan by lytic transglycosylase Slr of *Pseudomonas aeruginosa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 17, p. 4393-4398, 2018.
- LI, Lele et al. Expression and purification of soluble recombinant  $\beta$ -lactamases using *Escherichia coli* as expression host and pET-28a as cloning vector. **Microbial Cell Factories**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2022.
- LI, Na et al. A novel *Bacillus cereus* bacteriophage DLn1 and its endolysin as biocontrol agents against *Bacillus cereus* in milk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 369, p. 109615, 2022.
- LIM, Jeong-A. et al. Characterization of endolysin from a *Salmonella Typhimurium*-infecting bacteriophage SPN1S. **Research in microbiology**, v. 163, n. 3, p. 233-241, 2012.
- LIM, Jeong-A. et al. Exogenous lytic activity of SPN9CC endolysin against gram-negative bacteria. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 24, n. 6, p. 803-811, 2014.
- LIU, Aiping et al. Characterization of endolysins from bacteriophage LPST10 and evaluation of their potential for controlling *Salmonella Typhimurium* on lettuce. **LWT**, v. 114, p. 108372, 2019.
- LOEFFLER, Jutta M.; NELSON, Daniel; FISCHETTI, Vincent A. Rapid killing of *Streptococcus pneumoniae* with a bacteriophage cell wall hydrolase. **Science**, v. 294, n. 5549, p. 2170-2172, 2001.
- LU, Biao et al. Isolation of *Klebsiella pneumoniae* phage vB\_KpnS\_MK54 and pathological Assessment of Endolysin in the treatment of Pneumonia mice Model. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 854908, 2022.
- LU, Rui et al. A broad-spectrum phage endolysin (LysCP28) able to remove biofilms and inactivate *Clostridium perfringens* strains. **Foods**, v. 12, n. 2, p. 411, 2023.
- MALLMANN, W. L.; HEMSTREET, C. A. R. L. Isolation of an inhibitory substance from plants. **Agric. Res**, v. 28, p. 599-602, 1924.
- MANOHAR, Prasanth; NACHIMUTHU, Ramesh; LOPES, Bruno S. The therapeutic potential of bacteriophages targeting gram-negative bacteria using *Galleria mellonella* infection model. **BMC microbiology**, v. 18, p. 1-11, 2018.
- MARTIN, N. H.; TORRES-FRENZEL, P.; WIEDMANN, M. Invited review: Controlling dairy product spoilage to reduce food loss and waste. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 2, p. 1251-1261, 2021.

- MAYER, Melinda J. et al. Genomic sequence and characterization of the virulent bacteriophage  $\Phi$ CTP1 from *Clostridium tyrobutyricum* and heterologous expression of its endolysin. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 16, p. 5415-5422, 2010.
- MELO, Luís DR et al. Efficacy and safety assessment of two enterococci phages in an in vitro biofilm wound model. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 6643, 2019.
- MERABISHVILI, Maya et al. Quality-controlled small-scale production of a well-defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials. **PloS one**, v. 4, n. 3, p. e4944, 2009.
- MIRDITA, Milot et al. Fast and sensitive taxonomic assignment to metagenomic contigs. **Bioinformatics**, v. 37, n. 18, p. 3029-3031, 2021.
- MISIOU, Ourania et al. The preservation of Listeria-critical foods by a combination of endolysin and high hydrostatic pressure. **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p. 355-362, 2018.
- MOYE, Zachary D.; WOOLSTON, Joelle; SULAKVELIDZE, Alexander. Bacteriophage applications for food production and processing. **Viruses**, v. 10, n. 4, p. 205, 2018.
- MULANI, Mansura S. et al. Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: a review. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 539, 2019.
- NAKAYINGA, Ritah et al. Xanthomonas bacteriophages: A review of their biology and biocontrol applications in agriculture. **BMC microbiology**, v. 21, n. 1, p. 1-20, 2021.
- NAZIR, Amina et al. Structural Genomics of repA, repB1-Carrying IncFIB Family pA1705-qnrS, P911021-tetA, and P1642-tetA, multidrug-resistant plasmids from klebsiella pneumoniae. **Infection and Drug Resistance**, p. 1889-1903, 2020.
- NELSON, Daniel C. et al. Endolysins as antimicrobials. **Advances in virus research**, v. 83, p. 299-365, 2012.
- Neves MFT, V. G.; Milan, P.; Lopes, F. F.; Cressoni, F.; Kalaki, R. (2010) O retrato da citricultura brasileira. 138
- NILSSON, Anders S. Phage therapy—constraints and possibilities. **Upsala journal of medical sciences**, v. 119, n. 2, p. 192-198, 2014.
- NOBREGA, Franklin L. et al. Targeting mechanisms of tailed bacteriophages. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 12, p. 760-773, 2018.
- NORTH, Olesia I.; DAVIDSON, Alan R. Phage proteins required for tail fiber assembly also bind specifically to the surface of host bacterial strains. **Journal of Bacteriology**, v. 203, n. 3, p. e00406-20, 2021.
- OBESO, José María et al. Lytic activity of the recombinant staphylococcal bacteriophage  $\Phi$ H5 endolysin active against *Staphylococcus aureus* in milk. **International journal of food microbiology**, v. 128, n. 2, p. 212-218, 2008.
- OLIVEIRA, Hugo et al. A thermostable *Salmonella* phage endolysin, Lys68, with broad bactericidal properties against gram-negative pathogens in presence of weak acids. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e108376, 2014.
- OOI, Mian Li et al. Safety and tolerability of bacteriophage therapy for chronic rhinosinusitis due to *Staphylococcus aureus*. **JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 145, n. 8, p. 723-729, 2019.
- O'Sullivan L, Bolton D, McAuliffe O, Coffey A (2019) Bacteriophages in Food Applications: From Foe to Friend. **Annu Rev Food Sci Technol** 10:151-172 doi:10.1146/annurev-food-032818-121747

ÖZAL, Dilara; ARNDT, Andreas; THOMÉ, Marcus. Bacteriophages and related endolysins for reduction of microorganisms in the human body—a systematic review. **GMS Hygiene and Infection Control**, v. 17, 2022.

PALLESEN, Emil MH et al. Endolysin Inhibits Skin Colonization by Patient-Derived Staphylococcus Aureus and Malignant T-Cell Activation in Cutaneous T-Cell Lymphoma. **Journal of Investigative Dermatology**, 2023.

PAYSAN-LAFOSSE, Typhaine et al. InterPro in 2022. **Nucleic acids research**, v. 51, n. D1, p. D418-D427, 2023.

PAZOS, Manuel; PETERS, Katharina. Peptidoglycan. **Bacterial cell walls and membranes**, p. 127-168, 2019.

PENG, Qin; YUAN, Yihui. Characterization of a novel phage infecting the pathogenic multidrug-resistant *Bacillus cereus* and functional analysis of its endolysin. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, p. 7901-7912, 2018.

PETITJEAN, Marie et al. The rise and the fall of a *Pseudomonas aeruginosa* endemic lineage in a hospital. **Microbial Genomics**, v. 7, n. 9, 2021.

PLOTKA, Magdalena et al. Biochemical characterization and validation of a catalytic site of a highly thermostable Ts2631 endolysin from the *Thermus scotoductus* phage vB\_Tsc2631. **PLoS One**, v. 10, n. 9, p. e0137374, 2015.

POŁASKA, Marzena; SOKOŁOWSKA, Barbara. Bacteriophages—a new hope or a huge problem in the food industry. **AIMS microbiology**, v. 5, n. 4, p. 324, 2019.

RAMOS-VIVAS, José et al. Phages and enzybiotics in food biopreservation. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5138, 2021.

RAVET, Karl; PILON, Marinus. Copper and iron homeostasis in plants: the challenges of oxidative stress. **Antioxidants & redox signaling**, v. 19, n. 9, p. 919-932, 2013.

SAMBROOK JF, E. F.; MANIATIS, T (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, 2 edn, Cold Spring Harbor

SANTAJIT, Sirijan; INDRAWATTANA, Nitaya. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.

SANTIN, Yoann G.; CASCALES, Eric. Measure of peptidoglycan hydrolase activity. **Bacterial Protein Secretion Systems: Methods and Protocols**, p. 151-158, 2017.

SASS, Peter; BIERBAUM, Gabriele. Lytic activity of recombinant bacteriophage  $\phi$ 11 and  $\phi$ 12 endolysins on whole cells and biofilms of *Staphylococcus aureus*. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 1, p. 347-352, 2007.

SCHAAD, Norman W. et al. Emended classification of *Xanthomonas* pathogens on citrus. **Papers in Plant Pathology**, p. 96, 2006.

SCHMELCHER M, Waldherr F, Loessner MJ (2012) *Listeria* bacteriophage peptidoglycan hydrolases feature high thermoresistance and reveal increased activity after divalent metal cation substitution. **Appl Microbiol Biotechnol** 93(2):633-43 doi:10.1007/s00253-011-3372-6

SCHMELCHER, Mathias; DONOVAN, David M.; LOESSNER, Martin J. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. **Future microbiology**, v. 7, n. 10, p. 1147-1171, 2012.

SCHMELCHER, Mathias et al; Synergistic streptococcal phage  $\lambda$ SA2 and B30 endolysins kill streptococci in cow milk and in a mouse model of mastitis. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, p. 8475-8486, 2015.

SCHMELCHER, Mathias; LOESSNER, Martin J. Bacteriophage endolysins: applications for food safety. **Current opinion in biotechnology**, v. 37, p. 76-87, 2016.

SCHMITZ, Jonathan E.; SCHUCH, Raymond; FISCHETTI, Vincent A. Identifying active phage lysins through functional viral metagenomics. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 21, p. 7181-7187, 2010.

SCHOOLEY, Robert T. et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 10, p. e00954-17, 2017.

SEEMANN, Torsten. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. **Bioinformatics**, v. 30, n. 14, p. 2068-2069, 2014.

SHANNON, Rachel; RADFORD, Devon R.; BALAMURUGAN, Sampathkumar. Impacts of food matrix on bacteriophage and endolysin antimicrobial efficacy and performance. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 10, p. 1631-1640, 2020.

SHARMA, Meenakshi; KUMAR, Dinesh; POLURI, Krishna Mohan. Elucidating the pH-dependent structural transition of T7 bacteriophage endolysin. **Biochemistry**, v. 55, n. 33, p. 4614-4625, 2016.

SHARMA, Sonika et al. Bacteriophages and its applications: an overview. **Folia microbiologica**, v. 62, p. 17-55, 2017.

SLOPEK, Stefan et al. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis**, v. 35, n. 5, p. 569-583, 1987.

SÖDING, Johannes; BIEGERT, Andreas; LUPAS, Andrei N. The HHpred interactive server for protein homology detection and structure prediction. **Nucleic acids research**, v. 33, n. suppl\_2, p. W244-W248, 2005.

SON, Jee-Soo et al. Antibacterial and biofilm removal activity of a podoviridae *Staphylococcus aureus* bacteriophage SAP-2 and a derived recombinant cell-wall-degrading enzyme. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 86, p. 1439-1449, 2010.

SON, Bokyung et al. Simultaneous control of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* using a hybrid endolysin LysB4EAD-LysSA11. **Antibiotics**, v. 9, n. 12, p. 906, 2020.

STONE, Edel et al. Understanding and exploiting phage–host interactions. **Viruses**, v. 11, n. 6, p. 567, 2019.

SUTTLE, Curtis A. Marine viruses—major players in the global ecosystem. **Nature reviews microbiology**, v. 5, n. 10, p. 801-812, 2007.

SYKILINDA, Nina N. et al. Structure of an *Acinetobacter* broad-range prophage endolysin reveals a C-terminal  $\alpha$ -helix with the proposed role in activity against live bacterial cells. **Viruses**, v. 10, n. 6, p. 309, 2018.

TABASSUM, Rabia et al. Complete genome analysis of a Siphoviridae phage TSK1 showing biofilm removal potential against *Klebsiella pneumoniae*. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 17904, 2018.

TARAKANOV, Rashit I. et al. Bacteriophage Control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* in Soybean. **Plants**, v. 11, n. 7, p. 938, 2022.

TWORT, Frederick W. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. **Acta Kravsi**, 1915.

- VASINA, Daria V. et al. Discovering the potentials of four phage endolysins to combat Gram-negative infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 748718, 2021.
- WANG, Jiun-Ling et al. Efficacy of  $\phi$ km18p phage therapy in a murine model of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. **Infection and drug resistance**, p. 2301-2310, 2018.
- WANG, Yong et al. Intranasal treatment with bacteriophage rescues mice from *Acinetobacter baumannii*-mediated pneumonia. **Future microbiology**, v. 11, n. 5, p. 631-641, 2016.
- WATERHOUSE, Andrew et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018.
- WILKS, Jessica C.; SLONCZEWSKI, Joan L. pH of the cytoplasm and periplasm of *Escherichia coli*: rapid measurement by green fluorescent protein fluorimetry. **Journal of bacteriology**, v. 189, n. 15, p. 5601-5607, 2007.
- WITTEBOLE, Xavier; DE ROOCK, Sophie; OPAL, Steven M. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 226-235, 2014.
- WONG, Jaslyn EMM et al. An intermolecular binding mechanism involving multiple LysM domains mediates carbohydrate recognition by an endopeptidase. **Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography**, v. 71, n. 3, p. 592-605, 2015.
- WRIGHT, A1 et al. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. **Clinical otolaryngology**, v. 34, n. 4, p. 349-357, 2009.
- XU, Min et al. Disulfide isomerization after membrane release of its SAR domain activates P1 lysozyme. **Science**, v. 307, n. 5706, p. 113-117, 2005.
- YANG, Shih-Chun et al. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. **Archives of microbiology**, v. 199, p. 811-825, 2017.
- YOUNG, R. Y. Bacteriophage holins: deadly diversity. **Journal of molecular microbiology and biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 21-36, 2002.
- YRUELA, Inmaculada. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, n. 5, p. 409-430, 2009.
- YU, Jun-Hyeok et al. Characterization of Staphylococcal endolysin LysSAP33 possessing untypical domain composition. **Journal of Microbiology**, v. 59, n. 9, p. 840-847, 2021.