

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН



2015 * № 4

Электронный журнал
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2015

УДК: 547.96:571.27-579.233

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (ГМ-КСФ) НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК КЛИНИЧЕСКИМИ ИЗОЛЯТАМИ СТАФИЛОКОККОВ

В.А. Гриценко^{1,2}, В.А. Зурочка^{3,4}, А.В. Зурочка^{3,4}, М.А. Добрынина³, Е.Б. Зуева³, Я.В. Тяпаева^{1,5}, Ю.П. Белозерцева⁵, П.П. Курлаев⁵

¹ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

² Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург, Россия

³ Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

⁴ Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

⁵ Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

Цель. Оценить влияние синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2 на формирование биопленок клиническими изолятами стафилококков разных видов.

Материалы и методы. Опыты *in vitro* проведены на 36 клинических штаммах *Staphylococcus aureus* (n=24) и *S. epidermidis* (n=12), выделенных из ран у больных с синдромом диабетической стопы и из влагалища у женщин с миомой матки. В экспериментах использовали синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2, полученный на синтезаторе «Applied Biosystems 430A». Влияние ZP2 (концентрация 10 мкг/мл) на формирование биопленок стафилококками определялось по методике Stepanovic S. et al. (2007).

Результаты. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 угнетал формирование биопленок у 75,0±9,0% штаммов *S. aureus* и 50,0±15,1% штаммов *S. epidermidis* со средним уровнем ингибирования формирования биопленок на 25,1±3,8 и 50,4±6,0% соответственно. Вместе с тем среди клинических изолятов стафилококков встречалось 8,3-25,0% штаммов, у которых под действием пептида в данной концентрации наблюдалась стимуляция образования биопленок на 14,9-48,5%, а также 16,7-25,0% культур, у которых формирование биопленок не изменялось.

Заключение. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 оказывает на формирование биопленок клиническими штаммами стафилококков разнонаправленное, но преимущественно ингибирующее действие, выраженность которого характеризуется меж- и внутривидовой (штаммовой) вариабельностью.

Ключевые слова: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), активный центр, синтетический пептид, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, клинические штаммы, формирование биопленок.

THE EFFECT OF SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER OF GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (GM-CSF) ON THE BIOFILM FORMATION BY CLINICAL ISOLATES OF STAPHYLOCOCCI

V.A. Gritsenko^{1,2}, V.A. Zurochka^{3,4}, A.V. Zurochka^{3,4}, M.A. Dobrynina³, E.B. Zueva³, Y.V. Tyapaeva^{1,5}, Yu.P. Belozertseva⁵, P.P. Kurlaev⁵

¹ Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

² Orenburg Scientific Centre UrB RAS, Orenburg, Russia

³ Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia

⁴ South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

⁵ Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Objective. To assess the effect of synthetic peptide of the active site of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) - ZP2 on biofilm formation by clinical isolates of different species of staphylococci.

Materials and methods. Experiments carried out in vitro on 36 clinical strains of *Staphylococcus aureus* (n = 24) and *S. epidermidis* (n = 12) isolated from the wounds in patients with patients with diabetic foot syndrome and out of the vagina in women with hysteromyoma. In work using synthetic peptide of the active site of the GM-CSF – ZP2, the resulting synthesizer «Applied Biosystems 430A». Influence ZP2 (concentration of 10 ug/ml) to the formation staphylococcal biofilms was determined by the method Stepanovic S. et al. (2007).

Results. A synthetic peptide of the active center of the GM-CSF - ZP2 inhibited biofilm formation at 75,0±9,0% *S. aureus* strains and 50,0±15,1% *S. epidermidis* strains with an average level of inhibition of biofilm formation at 25,1±3,8 and 50,4±6,0% correspondingly. However, among clinical isolates of Staphylococci strains encountered 8,3-25,0%, which under the influence of peptide concentration in the observed-stimulation of the formation of biofilms on 14,9-48,5%, but 16,7-25, 0% of the cultures in which biofilm formation is not changed.

Conclusion. A synthetic peptide of the active center of the GM-CSF – ZP2 has on the formation of biofilms of clinical isolates of staphylococci in different directions, but mostly inhibitory effect, the severity of which is characterized by inter- and intraspecific variability.

Keywords: granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), active site, synthetic peptide, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, clinical strains, biofilm formation.

Введение

Золотистые и коагулазоотрицательные стафилококки занимают лидирующие позиции в структуре возбудителей таких эндогенных бактериальных инфекционно-воспалительных заболеваний, как апостематозный нефрит, послеоперационные (нозокомиальные) инфекционные осложнения, раневые дефекты при синдроме диабетической стопы и др. [1, 2]. При развитии инфекционно-воспалительный процесса в него неминуемо вовлекаются клетки иммунной системы, синтезирующие различные цитокины, выполняющие регуляторную функцию [3].

Одним из таких цитокинов является гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) [4], синтетические аналоги активного центра которого, в частности пептид ZP2, проявляют плейотропные

эффекты, обладая, помимо функции стимуляции костномозгового кровотока, иммуномодулирующей и репарационной активностью [5-7]. Кроме того в серии экспериментальных работ на эталонных (музейных) и клинических штаммах микроорганизмов, в том числе стафилококков, установлено, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 оказывает антибактериальное действие на развитие бактериальных популяций в жидкой питательной среде, характер и выраженность которого в известной степени зависит от таксономической принадлежности стафилококков [8-11].

В то же время влияние синтетического пептида ZP2 на качественные (биологические, патогенные, персистентные) свойства микроорганизмов пока не охарактеризовано, что послужило побудительным мотивом для проведения настоящего исследования. В качестве «биомишени» была выбрана способность микроорганизмов формировать биопленки, поскольку данное свойство относится к факторам персистенции и адаптации бактерий, в том числе стафилококков [12, 13].

Целью работы явилась оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2 на формирование биопленок клиническими изолятами стафилококков разных видов в экспериментах *in vitro*.

Материалы и методы

Опыты *in vitro* проведены на 36 клинических штаммах стафилококков из коллекции ИКВС УрО РАН, в том числе на 24 культурах *Staphylococcus aureus* и 12 изолятах *S. epidermidis*, выделенных из ран у больных с синдромом диабетической стопы и отделяемого из влагалища у женщин с субмукозной миомой матки. Видовая идентификация клинических изолятов стафилококков проведена общепринятыми методами, в том числе по биохимическим признакам с использованием официальных тест-систем «StaphyTest» (Lachema, Чехия) [14].

В экспериментах использован опытный образец синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 (химическая формула: THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), синтезированного твердофазным способом на синтезаторе «Applied Biosystems 430A» (USA) по методу *in situ* [5].

Изучение влияния синтетического пептида ZP2 на биопленкообразование (БПО) клиническими штаммами стафилококков осуществлялось с помо-

щью "планшетного метода" [15, по протоколу 16] с незначительными модификациями путем их выращивания в стерильной 96-луночной полистироловой планшете. Для этого в микроячейки с 225 мкл мясопептонного бульона (МПБ) без синтетического пептида ZP2 (контроль) и с его наличием в концентрации 10 мкг/мл (опыт) вносили 25 мкл взвесей микроорганизмов, приготовленных из суточных агаровых культур бактерий и содержащих 5×10^8 КОЕ/мл. После инкубирования планшет в течение 24 ч при 37°C из лунок удаляли планктонные клетки, отсасывая микропипеткой надосадов; образовавшиеся на дне микроячеек биопленки трехкратно отмывали 300 мкл стерильного фосфатно-солевого буфера (рН 7,2), фиксировали (подсушивание при 37°C в течение 2 ч) и окрашивали 2% раствором кристаллвиолета (150 мкл; 15 мин при комнатной температуре), после чего лунки трех- или четырехкратно промывали дистиллированной водой (до ее полного просветления); для экстракции красителя из биопленок в лунки вносили по 200 мкл смеси этанола и уксусной кислоты (95:5), выдерживали 30 мин, а затем 150 мкл надосадка отсасывали микропипеткой и переносили в чистую планшету для замера оптической плотности (OD) при длине волны 540 нм с помощью планшетного фотометра Multiscan ascent (Thermo Electron Co., China). Интенсивность окрашивания надосадка, рассчитанная путем вычитания из значения OD (биопленка) значения OD отрицательного контроля (лунка с МПБ без культуры бактерий), соответствовала степени биопленкообразования (БПО, усл. ед.) исследуемыми культурами стафилококков. Эксперименты делали в трех препаративных повторностях, высчитывая средние значения БПО.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$). О достоверности межвидовых отличий судили по критерию Стьюдента - t [17].

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ средних значений степени биопленкообразования (БПО) клинических изолятов *S. aureus* (n=24) и *S. epidermidis* (n=24) показал, что золотистые стафилококки по этому показателю значительно (в 2 раза) уступали эпидермальным стафилококкам ($0,44 \pm 0,04$ против $0,87 \pm 0,14$ усл. ед.; $p < 0,01$). Это отражает межвидовые отличия золотистых и коагулазоотрицательных стафилококков по способности формировать биопленки, на что ранее указывали другие авторы [12, 18].

В то же время следует отметить наличие выраженной внутривидовой вариабельности данного признака, о чем свидетельствовали широкие диапазоны варьирования БПО у клинических изолятов *S. aureus* и *S. epidermidis* (соответственно 0,20...0,93 и 0,31...2,06 усл. ед.).

Оценивая влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на формирование биопленок клиническими штаммами *S. aureus* и *S. epidermidis*, можно констатировать, что независимо от родовой принадлежности стафилококков под действием данного пептида у изученных бактерий наблюдалось ингибирование способности к БПО: в среднем на 22,2% – для золотистого стафилококка (с $0,44 \pm 0,04$ до $0,36 \pm 0,04$ усл. ед.) и на 33,8% – для эпидермального стафилококка (с $0,87 \pm 0,14$ до $0,65 \pm 0,10$ усл. ед.).

Вместе с тем при детальном анализе влияния синтетического пептида ZP2 на биопленкообразование отдельными штаммами стафилококков (в парах контроль – опыт) было отмечено, что данный пептид оказывал разнонаправленное действие на способность формировать биопленки как клиническими изолятами *S. aureus*, так и культурами *S. epidermidis* (рисунок).

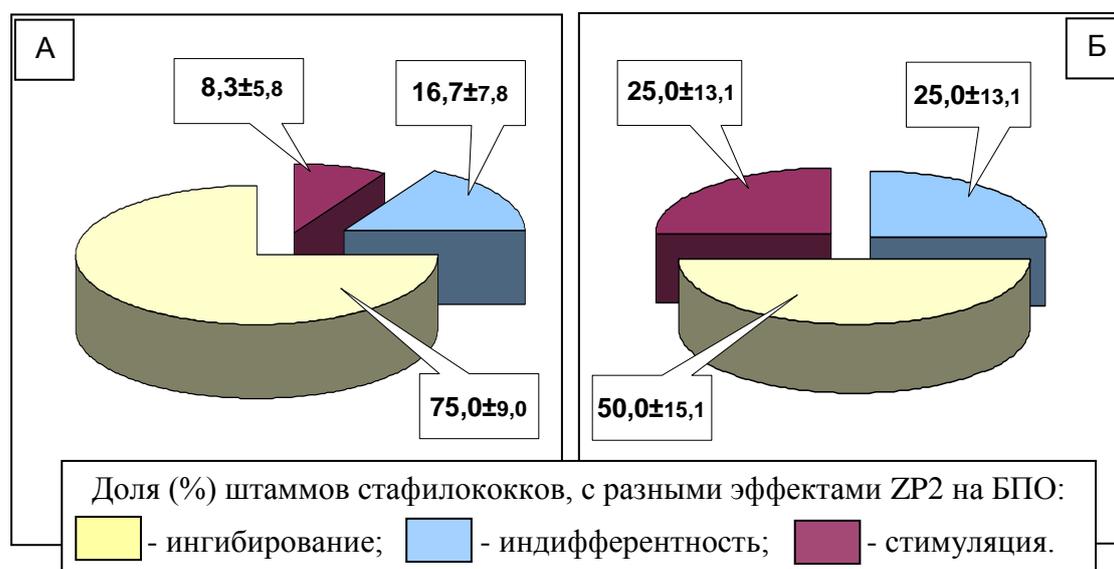


Рис. Структура клинических штаммов *S. aureus* (А) и *S. epidermidis* (Б) с учетом влияния синтетического пептида ZP-2 на формирование у них биопленок (доля штаммов стафилококков, %).

Из рисунка видно, что в структуре клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* кроме изолятов стафилококков, у которых выявлялся ингибирующий эффект синтетического пептида ZP2 на БПО, имелись культуры бактерий (16,7 и 25,0% соответственно) с индифферентной реакцией на него

(изменения БПО не превышали 5%), а также определенная доля штаммов золотистых и эпидермальных стафилококков, у которых под действием данного пептида происходила стимуляция способности к формированию биопленок (8,3 и 25,0% соответственно).

Эти результаты свидетельствовали о выраженной внутривидовой вариабельности стафилококков разных родов не только по способности к формированию биопленок, но и по ответной реакции на действие синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2, что может быть связано с наличием в изученных выборках разных клоновых линий стафилококков, у которых генетическая детерминация БПО может иметь существенные отличия [19, 20].

Более подробная информация о влиянии синтетического пептида ZP2 на биопленкообразование (БПО) клиническими штаммами *S. aureus* и *S. epidermidis* представлена в таблице.

Таблица. Влияние синтетического пептида ZP2 на биопленкообразование (БПО) клиническими штаммами стафилококков

Параметры биопленкообразования (БПО) бактерий	Значения параметров у разных видов стафилококков	
	<i>S. aureus</i> (n=24)	<i>S. epidermidis</i> (n=12)
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 ингибировал БПО, абс. (%)	18 (75,0±9,0)	6 (50,0±15,1)
Диапазон ингибирования БПО (min-max, %)	6,6-24,4	31,7-69,8
Средние значения уровня ингибирования БПО (%):	25,1±3,8	50,4±6,0*
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 не изменял БПО, абс. (%)	4 (16,7±7,8)	3 (25,0±13,1)
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 стимулировал БПО, абс. (%)	2 (8,3±5,8)	3 (25,0±13,1)
Диапазон стимуляции БПО (min-max, %)	18,1-21,6	28,6-48,5
Средние значения уровня стимуляции БПО (%):	19,9±1,8	39,8±5,9*

Примечание: * - достоверность отличий между группами, $p < 0,05$.

Из таблицы видно, что по реакции БПО на синтетический пептид ZP2 группа клинических штаммов *S. aureus* была более «гомогенной», чем выборка изолятов *S. epidermidis*. Об этом, в частности, свидетельствовало присутствие среди культур золотистого стафилококка относительно небольшого

числа штаммов, у которых синтетический пептид ZP2 не изменял БПО ($16,7 \pm 7,8\%$) или стимулировал продукцию биопленок ($8,3 \pm 5,8\%$), тогда как в группе эпидермального стафилококка количество таких культур достигало $25,0 \pm 13,1\%$. Кроме того у *S. aureus* в сравнении с *S. epidermidis* регистрировалась более низкая (примерно в 2 раза) выраженность как ингибирующего эффекта ($25,1 \pm 3,8$ против $50,4 \pm 6,0$ усл. ед.; $p < 0,05$), так и стимулирующей активности ($19,9 \pm 1,8$ против $39,8 \pm 5,9$ усл. ед.; $p < 0,05$) синтетического пептида ZP2 в отношении способности стафилококков продуцировать биопленки.

Характеризуя в целом влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на формирование биопленок клиническими штаммами стафилококков, необходимо отметить, что, несмотря на выявленную меж- и внутривидовую вариабельность реакции *S. aureus* и *S. epidermidis* и ее разнонаправленность (подавление, индифферентность, стимуляция БПО), синтетический пептид ZP2 (в концентрации 10 мкг/мл) оказывал преимущественно ингибирующее действие на способность стафилококков образовывать биопленки не зависимо от их таксономической принадлежности.

Эти результаты в совокупности с имеющимися данными об иммунотропной активности [5] и антибактериальном эффекте синтетического пептида ZP2 в отношении клинических штаммов стафилококков [11] определяют перспективность указанного пептида в качестве основы при создании лекарственных препаратов для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний стафилококковой этиологии, в том числе эндогенной природы [2].

Заключение

При развитии эндогенных бактериальных инфекций, включая заболевания стафилококковой этиологии, одним из ключевых этапов патогенеза является колонизация возбудителями тканей инфицированных органов [1, 2]. Реализация указанного процесса и возможность персистенции патогенов при хроническом течении инфекции критически зависят от способности возбудителей осуществлять адгезию на клетках макроорганизма (а в ряде случаев – например при катетер-ассоциированных инфекциях – на поверхности медицинских инструментов) с последующим формированием микроколоний и биопленок [12, 21]. В этой связи понятно повышенное внимание к указанному свойству (биоупленкообразование – БПО) золотистых и эпидермальных стафилококков, которые относятся к категории приоритетных возбудителей эндогенных инфекционно-воспалительных процессов, в том числе, та-

ких как раневая инфекция при синдроме диабетической стопы и послеоперационные инфекционные осложнения в гинекологической практике [2, 22-24].

Приведенные в работе данные, с одной стороны, свидетельствуют о межвидовых отличиях *S. aureus* и *S. epidermidis* по способности формировать биопленки, подтверждая хорошо известное гено- и фенотипическое своеобразие коагулазопозитивных и коагулазонегативных стафилококков [25, 26], с другой стороны, указывают на возможность наличия видовых особенностей генетической детерминации и/или регуляции экспрессии биопленкообразования у стафилококков разной таксономической принадлежности [18, 27, 28]. Выявленная внутривидовая вариабельность стафилококков по выраженности данного свойства вполне согласуется с последним предположением и, очевидно, отражает не только экологическую детерминированность биофильей бактерий [29], но и присутствие в изученных выборках клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* различных клоновых линий, отличающихся между собой по совокупности биологических характеристик, включая их антибиотикорезистентность, факторы патогенности/вирулентности и персистентные свойства, в том числе БПО, на что неоднократно указывали разные авторы [19, 30].

Нельзя исключить, что именно с этими причинами связана описанная нами выше вариабельность эффектов синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении способности клинических изолятов стафилококков формировать биопленки, когда под действием данного пептида (в концентрации 10 мкг/мл) у *S. aureus* и *S. epidermidis* биопленкообразование либо сохранялось на прежнем уровне (индифферентность у 16,7-25,0% штаммов), либо изменялось, причем в диаметрально противоположных векторах: чаще (у 50,0-75,0% культур) – БПО снижалось (ингибирование), реже (у 8,3-25,0% изолятов) – БПО повышалось (стимуляция).

Дело в том, что еще в 2007 г. E. O'Neill et al. [20] показали наличие у отдельных штаммов (клоновых линий) золотистых стафилококков различных путей регуляции способности к формированию биопленок. Этими же авторами высказано предположение, что образование биопленок метициллин-устойчивыми вариантами *S. aureus* (MRSA) преимущественно находится под регулирующим контролем клеточной *agr*-системы и сопряжено с поверхностными адгезинами, тогда как у метициллин-чувствительных культур *S. aureus* (MSSA) выраженность данного свойства больше зависит от работы

icaADBC оперона, имеющего отношение к межклеточной адгезии (типа cell to cell) и синтезу полисахаридного межклеточного адгезина (polysaccharide intercellular adhesin – PIA), также называемому поли-N-ацетилглюкозамином (PNAG) или слизью [20]. J.P. O'Gara [27] считает, что к контролю за БПО у *S. aureus* причастен *sarA*-регулятор, отвечающий за функционирование *agr*-системы и деятельность *icaADBC*. Сходную (но, видимо, не всегда тождественную) систему регуляции БПО имеют и эпидермальные стафилококки, у которых ведущее значение принадлежит работе *icaADBC* оперона, а также других генетических структур, кодирующих синтез капсульного полисахарида/адгезина (PS/A), поверхностно-локализованного аутолизина (продукт гена *atlE*), липотейхоевых кислот и иных биомолекул, включенных в процесс формирования биопленок [12, 18, 19, 28].

Столь сложная (вероятно, поликомпонентная) система генетического контроля за продукцией биопленок стафилококками (в частности, *S. aureus* и *S. epidermidis*) пока не позволяет четко определить точку приложения («биомишень») синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2. Возможно, действие данного синтетического пептида на стафилококки реализуется не по одному, а по нескольким «каналам воздействия», для выяснения чего требуется проведение дальнейших исследований.

Однако уже сейчас можно с уверенностью сказать, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 оказывает на биопленкообразование *S. aureus* и *S. epidermidis* в основном ингибирующее действие, что делает его перспективным кандидатом для создания лекарственных (в том числе комбинированных) препаратов, эффективных в отношении возбудителей эндогенных инфекционно-воспалительных заболеваний стафилококковой этиологии.

(Работа выполнена по проектам ИКВС УрО РАН № 15-3-4-34 и ИИФ УрО РАН № 15-3-4-33 в рамках Комплексной программы фундаментальных исследований УрО РАН)

ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций. Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2009. 4: 66-71.
2. Гриценко В.А., Аминин Д.Л., Зурочка А.В. и др. Некоторые биологические эффекты иммуномодуляторов естественного и синтетического происхождения *in vitro* как основа создания новых лекарственных средств для борьбы с эндогенными инфекциями. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2012. 3: 1-17 [Электронный ресурс]. (URL: [http:// elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf](http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf)).
3. Иммунология: структура и функции иммунной системы / Под ред. Р.М. Хаитова. М., 2013. 280 с.

4. Murphy J.M., Young I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. *Vitam. Horm.* 2006. 74: 1-30. DOI:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
5. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Суховой Ю.Г. и др. Иммунотропные и биологические эффекты синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. *Вестник уральской медицинской академической науки.* 2011. 2/2 (35): 23-24.
6. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Костоломова Е.Г. и др. Сравнительная характеристика антибактериальных свойств синтетических пептидов активного центра GM-CSF и веществ, полученных из супернатантов CD34⁺45^{dim} клеток-предшественников гемопоэза. *Цитокины и воспаление.* 2012. 11 (2): 96-99.
7. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гольцова И.А., Гриценко В.А. Новые подходы к изучению спектра биологической активности синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. *Российский иммунологический журнал* 2014. Т. 8 (17). 3: 690-693.
8. Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на рост грамположительных кокков *in vitro*. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2015. 1: 1-10 [Электронный ресурс]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
9. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б. Влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на кинетику развития популяций грамположительных кокков и энтеробактерий в культуре. *Российский иммунологический журнал* 2015. Т. 9 (18). № 2(2): 30-35.
10. Добрынина М.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Сравнительный анализ влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора на рост музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia in vitro*. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2015. 2: 1-10 [Электронный ресурс]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
11. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П. Анализ чувствительности клинических изолятов стафилококков к синтетическому пептиду активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). *Российский иммунологический журнал* 2015. Т. 9 (18). 3(1): 82-85.
12. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann. Rev. Microbiol.* 2000. 54: 49-79.
13. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология. *Журн. микробиол.* 2015. 4: 4-9.
14. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера. М.: Медицина, 1982. 464с.
15. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J. et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1985. 22: 996-1006.
16. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS* 2007. 115: 891-899.
17. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352с.
18. Mack D, Becker P, Chatterjee I, Dobinsky S, Knobloch JK, Peters G, et al. Mechanisms of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*: functional molecules, regulatory circuits, and adaptive responses. *Int J Med Microbiol.* 2004. 294: 203-212.
19. Croes S., Deurenberg R.H., Boumans M.-L. et al. *Staphylococcus aureus* biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the *S. aureus* lineage. *BMC Microbiology.* 2009, 9: 229 (doi:10.1186/1471-2180-9-229).
20. O'Neill E., Pozzi C., Houston P. et al. Association between methicillin susceptibility and bio-

- film regulation in *Staphylococcus aureus* isolates from device-related infections. J Clin Microbiol. 2007. 45 (5): 1379-1388.
21. Сидоренко С.В. Катетер-ассоциированные инфекции. Современная онкология. 2001. 3: 96-97.
 22. Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Гриценко В.А. Микробиологические аспекты гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2013. № 3: 1-5 [Электронный ресурс]. (URL: [http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Belozerceva\(2013-3\).pdf](http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Belozerceva(2013-3).pdf)).
 23. Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Есипов В.А., Гриценко В.А. Опыт лечения гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы с применением оригинальной хирургической методики на фоне целенаправленной антибиотикотерапии. Креативная хирургия и онкология. 2014. 3: 67-70.
 24. Гриценко Я.В., Симонов А.А., Гриценко В.А., Константинова О.Д. Оптимизация путей профилактики развития инфекционно-воспалительных осложнений после гистероскопии у женщин с миомой матки и гиперпластическими процессами эндометрия. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2013. № 3: 1-15 [Электронный ресурс]. (URL: [http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/GricenkoYV-soavt\(2013-3\).pdf](http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/GricenkoYV-soavt(2013-3).pdf)).
 25. Дерябин Д.Г. Стафилококки: экология и патогенность. Екатеринбург: УрО РАН, 2000. 238с.
 26. Ivanov I.B., Gritsenko V.A., Kuzmin M.D. Phenotypic differences between coagulase-negative staphylococci isolated from seminal fluid of healthy men and men suffering from chronic prostatitis syndrome. International Journal of Andrology. 2010, Vol. 33: 563–567.
 27. O'Gara J.P. *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. FEMS. Microbiol Lett. 2007. 270 (2): 179-188.
 28. Izano E.A., Amarante M.A., Kher W.B., Kaplan J.B. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. Appl Environ Microbiol. 2008. 74 (2): 470-476.]
 29. Бухарин О.В., Гриценко В.А. Экологическая детерминированность внутривидового разнообразия патогенных бактерий. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2000. 1: 103-106.
 30. Бухарин О.В., Гриценко В.А., Дерябин Д.Г. Место внутривидового фенотипического разнообразия в экологии *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Вестник РАМН. 1997. 3: 34-40.

Поступила 12.11.2015

(Контактная информация: **Гриценко Виктор Александрович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, ученый секретарь Президиума Оренбургского научного центра УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел.: +7(3532)77-05-12; E-mail: vag59@mail.ru;

Зурочка Александр Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: av_zurochka@mail.ru;

Зурочка Владимир Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: v_zurochka@mail.ru;

Добрынина Мария Александровна – аспирант Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: secretar@iip.uran.ru;

Курлаев Петр Петрович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей хирургии Оренбургского государственного медицинского университета; адрес: 460014, г. Оренбург, ул. Советская, 6; тел.: +79033987778; E-mail: pk287778@mail.ru)

LITERATURA

1. Gricenko V.A., Ivanov Ju.B. Rol' persistentnyh svojstv v patogeneze jendogennyh infekcij. Zhurnal mikrobiol., jepidemiol. i immunobiol.. 2009. 4: 66-71.
2. Gricenko V.A., Aminin D.L., Zurochka A.V. i dr. Nekotorye biologicheskie jeffekty immonomoduljatorov estestvennogo i sinteticheskogo proishozhdenija in vitro kak osnova sozdaniya novyh lekarstvennyh sredstv dlja bor'by s jendogennymi infekcijami. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2012. 3: 1-17 [Jelektronnyj resurs]. (URL: <http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf>).
3. Immunologija: struktura i funkcii immunnoj sistemy / Pod red. R.M. Haitova. M., 2013. 280 s.
4. Murphy J.M., Young I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. Vitam. Horm. 2006. 74: 1-30. DOI:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
5. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Suhovej Ju.G. i dr. Immunotropnye i biologicheskie jef-fekty sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF. Vestnik ural'skoj medicinskoj akademicheskoy nauki. 2011. 2/2 (35): 23-24.
6. Zurochka A.V. Zurochka V.A., Kostolomova E.G. i dr. Sravnitel'naja harakteristika antibakterial'nyh svojstv sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-CSF i veshhestv, poluchennyh iz supernatantov CD34+45dim kletok-predshestvennikov gemopoeza. Citokiny i vospalenie. 2012. 11 (2): 96-99.
7. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gol'cova I.A., Gritsenko V.A. Novye podhody k izucheniju spektra biologicheskoy aktivnosti sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF. Rossijskij immunologicheskij zhurnal 2014. T. 8 (17). 3: 690-693.
8. Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Osobennosti vlijaniya sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF na rost grampolozhitel'nyh kok-kov in vitro. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 1: 1-10 [Jelek-tronnyj resurs]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
9. Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. Vlijanie sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF – ZP2 na kinetiku razvitija populja-cij grampolozhitel'nyh kokkov i jenterobakterij v kul'ture. Rossijskij immunolo-gicheskij zhurnal 2015. T. 9 (18). № 2(2): 30-35.
10. Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Cravnitel'nyj analiz vlijaniya sinteticheskogo peptida aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora na rost muzejnyh kul'tur bakterij rodov Staphylococcus i Escherichia in vitro. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 2: 1-10 [Jelektronnyj resurs]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
11. Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gritsenko V.A., Tjapaeva Ja.V., Belozerceva Ju.P. Analiz chuvstvitel'nosti klinicheskikh izoljatov stafilokokkov k sinteticheskomu peptidu aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF). Rossijskij immunologicheskij zhurnal 2015. T. 9 (18). 3(1): 82-85.
12. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Ann. Rev. Microbiol. 2000. 54: 49-79.
13. Buharin O.V. Infekcionnaja simbiologija. Zhurn. mikrobiol. 2015. 4: 4-9.
14. Spravochnik po mikrobiologicheskim i virusologicheskim metodam issledovanija / Pod red. M.O. Birgera. M.: Medicina, 1982. 464s.
15. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J. et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. J Clin Microbiol 1985. 22: 996-1006.
16. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm produc-

- tion by staphylococci. *APMIS* 2007. 115: 891-899.
17. Lakin G.F. *Biometrija*. M.: Vysshaja shkola, 1990. 352s.
 18. Mack D, Becker P, Chatterjee I, Dobinsky S, Knobloch JK, Peters G, et al. Mechanisms of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*: functional molecules, regulatory circuits, and adaptive responses. *Int J Med Microbiol*. 2004. 294: 203-212.
 19. Croes S., Deurenberg R.H., Boumans M.-L. et al. *Staphylococcus aureus* biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the *S. aureus* lineage. *BMC Microbiology*. 2009, 9: 229 (doi:10.1186/1471-2180-9-229).
 20. O'Neill E., Pozzi C., Houston P. et al. Association between methicillin susceptibility and biofilm regulation in *Staphylococcus aureus* isolates from device-related infections. *J Clin Microbiol*. 2007. 45 (5): 1379-1388.
 21. Sidorenko S.V. Kateter-associirovannye infekcii. *Sovremennaja onkologija*. 2001. 3: 96-97.
 22. Belozerceva Ju.P., Kurlaev P.P., Gritsenko V.A. Mikrobiologicheskie aspekty gnojno-nekroticheskikh oslozhenij sindroma diabeticheskoj stopy. *Bulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN*. 2013. № 3: 1-5 [Elektronnyj resurs]. (URL: [http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Belozerceva\(2013-3\).pdf](http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Belozerceva(2013-3).pdf)).
 23. Belozerceva Ju.P., Kurlaev P.P., Esipov V.A., Gritsenko V.A. Opyt lechenija gnojno-nekroticheskikh oslozhenij sindroma diabeticheskoj stopy s primeneniem origi-nal'noj hirurgicheskoj metodiki na fone celenapravlennoj antibiotikoterapii. *Kreativnaja hirurgija i onkologija*. 2014. 3: 67-70.
 24. Gritsenko Ja.V., Simonov A.A., Gricenko V.A., Konstantinova O.D. Optimizacija putej profilaktiki razvitija infekcionno-vospalitel'nyh oslozhenij posle gisteroskopii u zhenshhin s miomoj matki i giperplasticheskimi processami jendometrija. *Bulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN*. 2013. № 3: 1-15 [Elektronnyj resurs]. (URL: [http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/GricenkoYV-soavt\(2013-3\).pdf](http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2013-3/Articles/GricenkoYV-soavt(2013-3).pdf)).
 25. Derjabin D.G. Stafilokokki: jekologija i patogennost'. Ekaterinburg: UrO RAN, 2000. 238с.
 26. Ivanov I.B., Gritsenko V.A., Kuzmin M.D. Phenotypic differences between coagulase-negative staphylococci isolated from seminal fluid of healthy men and men suffering from chronic prostatitis syndrome. *International Journal of Andrology*. 2010, Vol. 33: 563-567.
 27. O'Gara J.P. *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS. Microbiol Lett*. 2007. 270 (2): 179-188.
 28. Izano E.A., Amarante M.A., Kher W.B., Kaplan J.B. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Appl Environ Microbiol*. 2008. 74 (2): 470-476.]
 29. Buharin O.V., Gritsenko V.A. Jekologicheskaja determinirovannost' vnutrividovogo raznoobrazija patogennyh bakterij. *Zhurn. mikrobiol., jepidemiol. i immunobiol*. 2000. 1: 103-106..
 30. Buharin O.V., Gritsenko V.A., Derjabin D.G. Mesto vnutrividovogo fenotipicheskogo raznoobrazija v jekologii *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. *Vestnik RAMN*. 1997. 3: 34-40

Образец ссылки на статью:

Гриценко В.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П. Влияние синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) на формирование биопленок клиническими изолятами стафилококков. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2015. 4: 1-11 [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru/9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/VAG-2015-4.pdf>).