

© Коллектив авторов, 2018

УДК: 579.861.2-547.96

М.А. Добрынина¹, А.В. Зурочка^{1, 2}, Я.В. Тяпаева^{3, 4}, Ю.П. Белозерцева³,
В.А. Гриценко⁴

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА – ZP2 НА РОСТ И БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ *IN VITRO*

¹ Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

² Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский), Челябинск, Россия

³ Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

⁴ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель. Проанализировать характер влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2 на рост в жидкой питательной среде и биопленкообразование клинических штаммов энтеробактерий *in vitro*.

Материалы и методы. Опыты *in vitro* проведены на тест-штаммах *Escherichia coli* K12 (ATCC 25922) и *Staphylococcus aureus* 209P (ATCC 6538-P), а также 24 клинических изолятах энтеробактерий, включая *E. coli* (n=12) и *Klebsiella pneumoniae* (n=12), выделенных из гнойных ран у больных с синдромом диабетической стопы, отделяемого влагалища у женщин с миомой матки, желчи у больных с холециститом и холангитом. В экспериментах использовали синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2, полученный на синтезаторе «Applied Biosystems 430A». Влияние разных концентраций данного пептида (3, 10, 30, 100 и 300 мкг/мл) на рост изученных штаммов бактерий в мясопептонном бульоне (МПБ) определялось путем динамического замера оптической плотности (ОД) бактериальных культур на 0, 2, 4, 6 и 24 часах и расчета Индекса ингибирования их роста. Влияние пептида ZP2 (концентрация 10 мкг/мл) на формирование бактериями биопленок оценивалось по модифицированной методике Stepanovic S. et al. [33].

Результаты. На примере тест-штаммов *E. coli* K12 и *S. aureus* 209P, а также клинических штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* охарактеризованы дозо-зависимые эффекты и видоспецифические особенности действия синтетического пептида ZP2 на рост в МПБ изученных штаммов бактерий. Показана межвидовая и внутривидовая (штаммовая) вариабельность энтеробактерий (*E. coli* и *K. pneumoniae*) по их реакции на воздействие синтетического пептида ZP2 в виде изменения динамики в периодических культурах биомассы бактерий и способности микроорганизмов формировать биопленки.

Заключение. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2 оказывает на рост энтеробактерий (эшерихии, клебсиеллы) в жидкой питательной среде разнонаправленное (преимущественно ингибирующее) действие, характер и выраженность которого зависят от концентрации вещества, таксономической принадлежности бактерий и фазы развития бактериальных культур, что необходимо учитывать при практическом применении препаратов, содержащих в своем составе указанный пептид (например, косметического средства «Ацеграм»).

Ключевые слова: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), активный центр, синтетический пептид, антибактериальная активность, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, рост, формирование биопленок.

*M.A. Dobrynina¹, A.V. Zurochka^{1,2}, Y.V. Tyapaeva^{3,4}, Y.P. Belozertseva³,
V.A. Gritsenko⁴*

EVALUATION OF THE EFFECT OF THE SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER OF GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR - ZP2 ON THE GROWTH AND BIOFILM FORMATION OF CLINICAL ISOLATES OF ENTEROBACTERIA IN VITRO

¹ Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia

² South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

³ Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

⁴ Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

Objective. Analyze the nature of the effect of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) – ZP2 on growth in liquid nutrient medium and biofilm formation of clinical strains of enterobacteria in vitro.

Materials and methods. In vitro experiments were performed on *Escherichia coli* K12 test strains (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* 209P (ATCC 6538-P), as well as 24 clinical isolates of enterobacteria, including *E. coli* (n=12) and *Klebsiella pneumoniae* (n=12), isolated from purulent wounds in patients with diabetic foot syndrome, vaginal discharge in women with uterine myoma, bile in patients with cholecystitis and cholangitis. In the experiments, the synthetic peptide of the active site GM-CSF – ZP2, obtained on the “Applied Biosystems 430A” synthesizer, was used. The effect of different concentrations of this peptide (3, 10, 30, 100, and 300 µg/ml) on the growth of the studied bacterial strains in the meat-peptone bouillon (MPB) was determined by dynamic measurement of the optical density (OD) of bacterial cultures at 0, 2, 4, 6 and 24 hours and the calculation of the Index of inhibition of their growth. The effect of peptide ZP2 (concentration 10µg/ml) on the formation of biofilms by bacteria was evaluated by the modified method Stepanovic S. et al. [33].

Results. Using the example of test strains *E. coli* K12 and *S. aureus* 209P, as well as clinical strains of *E. coli* and *K. pneumoniae*, the dose-dependent effects and species-specific features of the effect of the synthetic peptide ZP2 on the growth in the BCH of the bacterial strains studied were characterized. The interspecific and intraspecific (strain) variability of enterobacteria (*E. coli* and *K. pneumoniae*) was shown in their response to the effect of the ZP2 syn-peptide as changes in the dynamics in periodic cultures of bacterial biomass and the ability of microorganisms to form biofilms.

Conclusion. The synthetic peptide of the active site GM-CSF - ZP2 has a multi-directional (mainly inhibitory) effect on the growth of enterobacteria (*Escherichia*, *Klebsiella*) in a liquid nutrient medium; it is necessary to take into account in the practical application of preparations containing in their composition the indicated peptide (for example, cosmetic product “Acegram”).

Keywords: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), active center, synthetic peptide, antibacterial activity, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, growth, biofilm formation.