



Оригинальное исследование
УДК 616-77-022.616-085:615.281
<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-3-10>

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛИЗОСТАФИНА И ВАНКОМИЦИНА ПРОТИВ ПЛАНКТОННЫХ И СЕСИЛЬНЫХ ФОРМ МЕТИЦИЛЛИН-РЕЗИСТЕНТНЫХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Екатерина Михайловна Гордина^{1✉}, Светлана Анатольевна Божкова², Лариса Николаевна Смирнова³

^{1,2,3}Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург, Россия

^{1✉}emgordina@win.rniito.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2326-7413>

²clinpharm-rniito@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2083-2424>

³lnsmirnova@rniito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3307-0131>

Аннотация. В настоящее время все чаще регистрируют штаммы *S. aureus* устойчивые практически ко всем доступным антибиотикам. Вопрос поиска новых альтернативных соединений, направленных на успешную элиминацию возбудителя, является приоритетным. Также значительной проблемой является способность стафилококков образовывать биопленки на различных конструкциях, что обеспечивает их выживание в условиях воздействия антибактериальных препаратов и факторов иммунной системы. Одним из возможных перспективных антистафилококковых соединений является лизостафин. В экспериментальном исследовании выполнен сравнительный анализ антистафилококкового действия лизостафина и ванкомицина на планктонные и сесильные формы метициллин-резистентных *S. aureus* (MRSA), выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. Показано, что лизостафин ингибировал рост MRSA в более низких концентрациях, чем ванкомицин. Показатель ВРС_{50/90} (biofilm prevention concentration) лизостафина – 1/2 мг/л, ванкомицина – 1/4 мг/л. Кроме того, ванкомицин не оказывал бактерицидного действия в тестируемых концентрациях на бактериальные клетки в составе суточных биопленок. Лизостафин показал себя активным антибиопленочным ферментом, оказывающим выраженное действие против планктонных клеток MRSA и сесильных форм бактерий в составе сформированной биопленки, показатель МВІС_{50/90} (minimal biofilm inhibitory concentration) лизостафина составил 1/8 мг/л. Потенциальное расширение арсенала действующих эффективных средств борьбы с инфекциями, связанными с образованием биопленок, будет способствовать подбору адекватных терапевтических стратегий и профилактике рецидивов хронических заболеваний, в частности связанных с ортопедическими имплантатами. Несмотря на возможные трудности, дальнейшие исследования лизостафина крайне перспективны в связи с его высокой активностью в отношении резистентных к антибиотикам *S. aureus*.

Ключевые слова: *S. aureus*, MRSA, лизостафин, ванкомицин, биопленка, антибиотикорезистентность

Для цитирования: Гордина Е.М. Сравнительная оценка эффективности лизостафина и ванкомицина против планктонных и сесильных форм метициллин-резистентных *Staphylococcus Aureus* / Е.М. Гордина, С.А. Божкова, Л.Н. Смирнова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2024. – № 3. – С. 60-66. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-3-10>.

COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF LYSOSTAPHIN AND VANCOMYCIN AGAINST PLANKTONIC AND SESSILE FORMS OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Ekaterina M. Gordina^{1✉}, Svetlana A. Bozhkova², Larisa N. Smirnova³

^{1,2,3}Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

^{1✉}emgordina@win.rniito.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2326-7413>

²clinpharm-rniito@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2083-2424>

³lnsmirnova@rniito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3307-0131>

Abstract. Currently, *S. aureus* resistant to almost all available antibiotics are increasingly being registered. The search for new alternative compounds aimed at successful elimination of the pathogens is a priority. Also a significant problem is staphylococcal biofilms on various structures, which ensures their survival under the effect of antibacterial drugs and immune system factors. One of the possible promising antistaphylococcal compounds is lysostaphin. An experimental study performed a comparative analysis of the antistaphylococcal effects of lysostaphin and vancomycin on planktonic



and sessile forms of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) isolated from patients with orthopedic infection. Lysostaphin was shown to inhibit the growth of MRSA at lower concentrations than vancomycin. The BPC_{50/90} (biofilm prevention concentration) of lysostaphin was 1/2 mg/l, vancomycin – 1/4 mg/l. In addition, vancomycin did not have a bactericidal effect at the tested concentrations on bacterial cells into biofilms. Lysostaphin showed itself to be an active anti-biofilm enzyme, which has a pronounced effect against MRSA planktonic cells and sessile forms, the MBIC_{50/90} (minimal biofilm inhibitory concentration) of lysostaphin was 1/8 mg/l. The potential expansion of the arsenal of currently effective means of combating infections associated with the biofilm-formation will contribute to the selection of adequate therapeutic strategies and the prevention of relapse of chronic diseases, in particular those associated with orthopedic implants. Despite the potential difficulties, further studies of lysostaphin are extremely promising due to its high activity against antibiotic-resistant *S. aureus* strains.

Keywords: *S. aureus*, MRSA, lysostaphin, vancomycin, biofilm, antibiotic resistance

For citation: Gordina E.M. Comparison of the effectiveness of lysostaphin and vancomycin against planktonic and sessile forms of methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* / E.M. Gordina, S.A. Bozhkova, L.N. Smirnova // Far Eastern medical journal. – 2024. – № 3. – P. 60-66. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-3-10>.

В течение последних нескольких десятилетий регистрируют значительное увеличение числа бактерий с множественной лекарственной устойчивостью к антибактериальным препаратам [1]. Так, Murray K.S. с соавторами на основе прогностических статистических моделей показали, что за 2019 г. было зарегистрировано 4,95 млн смертей, связанных с бактериальной устойчивостью, в том числе 1,27 млн смертей, напрямую вызванных антибиотикорезистентными штаммами [1].

В настоящее время выделяют штаммы *S. aureus* устойчивые практически ко всем доступным антибиотикам. Резистентный к метициллину *S. aureus* (MRSA) является одним из основных патогенов в медицинских учреждениях [2]. Приобретение SCCmec посредством переноса гена, содержащего ген *mecA*, ответственного за кодирование белка PBP-2a, обеспечивает устойчивость MRSA к большинству β-лактамов. В дополнение к хорошо известным генетическим механизмам, лежащим в основе устойчивости к антибиотикам, стафилококки способны демонстрировать другие стратегии противостояния воздействию противомикробных препаратов, одна из которых – способность формировать биопленки. Биопленки представляют собой высокоструктурированные ассоциации микроорганизмов, встроенные в самопродуцируемый внеклеточный матрикс и прикрепленные к биотической или абиотической поверхности [3]. Формирование стафилококками биопленок играет ведущую роль в развитии инфекций, связанных с медицинскими устройствами: имплантат-ассоциированный остеомиелит, эндокардит протезированных клапанов, катетер-ассоциированные инфекции кровотока и другие, а также обеспечивает устойчивость бактерий к действию систем врожденной и адаптивной иммунной защиты, что может приводить к персистирующим инфекциям и неэффективности проводимой терапии [3-6].

В основе лечения стафилококковых инфекций лежит применение антибиотиков, препятствующих синтезу клеточной стенки, такие как бета-лактамы препараты [2]. Однако при наличии устойчивости к данной группе препаратов, одним из препаратов выбора для лечения MRSA-инфекций остается ванкомицин [7]. В последние годы появились изоляты *S. aureus* с резистентностью к ванкомицину (VRSA), опосредованной геном *vanA*, источником которого служили устойчивые к ванкомицину энтерококки [7]. С тех пор как первый изолят VRSA был обнаружен в Мичигане, США, в 2002 г., во всем мире было выделено 52 штамма VRSA [7]. Увеличение минимальных ингибирующих концентраций ванкомицина, необходимых для элиминации патогена, приводят к снижению клинической эффективности лечения и к необходимости поиска альтернативных стратегий борьбы с возбудителем.

Лизостафин является ферментом, секретируемым *Staphylococcus simulans* biovar *staphylolyticus* с высокой специфической антибактериальной активностью *in vitro* и *in vivo* в отношении *S. aureus* [8]. Антистафилококковая активность лизостафина обусловлена его способностью гидролизовать пентаглициновый поперечный мостик пептидогликана *S. aureus* [9]. В своем исследовании Wu с соавторами показали, что использование лизостафина более выгодно, чем антибиотиков, благодаря его высокой специфичности в отношении стафилококков и чрезвычайно высокой кинетике антибактериального действия [10]. Кроме того, установлено, что лизостафин высокоэффективен в отношении *S. aureus*, включая штаммы MRSA, VISA и VRSA [11].

Цель исследования – сравнительный анализ антистафилококкового действия лизостафина и ванкомицина на планктонные и сесильные формы метициллин-резистентных *S. aureus*.

Материалы и методы

Лизостафин получали генно-инженерным способом. На первом этапе была создана плазмидная ДНК на основе вектора pET39b, содержащая ген лизостафина

GenBank: AAB53783.1. Последовательность гена оптимизировали для экспрессии в клетках *E. coli* с учетом частоты встречаемости кодонов. Полученной

плазмидной ДНК pET39b/Lss трансформировали клетки *E. coli* BL21(DE3) и из полученных трансформантов готовили главный и рабочий банки клеток. Штамм-продуцент выращивали глубинным способом в биореакторе общим объемом 5 литров (BTC, Латвия) на полусинтетической питательной среде. Индукция синтеза целевого белка осуществлялась путем добавления в среду лактозы. Культивирование продолжали до достижения стационарной фазы роста. Бактерии отделяли от культуральной жидкости на большегрузной центрифуге Sorvall Evolution RC (Thermo Scientific) при 15 000 g, 4 °C, 10 минут. Биомассу суспендировали в буфере 50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, pH 8.0 при 4 °C в соотношении 1:7. Затем суспензию бактериальных клеток дважды пропускали через проточный гомогенизатор высокого давления APV1000 (SPX, Danmark) при 750 бар. Дебрис удаляли на большегрузной центрифуге Sorvall Evolution RC (Thermo Scientific) при 15 000 g, 4 °C, 30 мин. Полученный супернатант передавали на этап выделения и очистки.

Очистку белка проводили на SP-сефарозе (GE, Sweden) в ацетатном буфере в градиенте NaCl 0-1 M на хроматографе AKTA Purifier 100 FPLC System (GE, Sweden). Целевые фракции осаждали сульфатом аммония до насыщения 40 %. Суспензию центрифугировали при 9 000 g, 4 °C, 10 мин. на центрифуге Eppendorf 5810R. Полученный осадок растворяли в буфере 20 mM NaOAc, 100 mM NaCl, pH 5.0 и наносили на колонку с Superdex 75 (GE, Sweden), уравновешенную тем же буфером. Целевые фракции фильтровали через стерилизующие фильтры Millex-GV 0,22 мкм (Millipore), фасовали по 1 мл во флаконы типа 2R и лиофилизировали в сушке AdVantage (VirTis, США). В готовом продукте определяли чистоту методом электрофореза в ПААГ по Лэмли, содержание бактериальных эндотоксинов методом ЛАЛ-теста и содержание иммунореактивных белков штамма-продуцента при помощи набора F410 (Cygnus, США).

Микробиологическое исследование носило проспективный характер, в него включали фенотипически различные клинические штаммы *S. aureus*, выделенные подряд из биоматериала пациентов с перипротезной инфекцией и/или остеомиелитом в 2022 г. Материалом для исследования служили тканевые биоптаты, раневое отделяемое, синовиальная жидкость и удаленные металлоконструкции. Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF-MS с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1. (Bruker Daltonics, Германия), Score $\geq 2,0$. Антибиотикочувствительность стафилококков изучали в соответствии с требованиями EUCAST (v.12) [12].

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) в отношении стафилококков ($n=24$) изучали путем

двукратных серийных разведений лизостафина или ванкомицина в бульоне Мюллера-Хинтон (МХБ) с диапазоном концентраций от 0,015 до 512 мг/л.

Биопленкообразование культур MRSA ($n=24$) оценивали по методу O'Toole (O'Toole, 2011). Степень биопленкообразования оценивали в соответствии с критериями Stepanovic, 2014. Для оценки влияния активных веществ на биопленкообразование в 4 лунки 96-луночного планшета вносили по 180 мкл стерильного бульона LB с 1 % глюкозы, содержащего определенную концентрацию лизостафина (0,125-8 мг/л) или ванкомицина (0,125-8 мг/л), затем добавляли 20 мкл культуры стафилококков (0,5 по шкале МакФарланда). Положительный контроль – 180 мкл питательной среды и 20 мкл культуры стафилококков, отрицательный контроль – 200 мкл питательной среды. Планшеты инкубировали в течение 24 ч при температуре 37 °C. Через сутки планшет дважды промывали буфером (DPBS), окрашивали 20 минут 0,1 % раствором генцианвиолета с последующей спиртовой экстракцией связавшегося красителя. Биомассу сформированных пленок оценивали по оптической плотности (ОП) полученных экстрактов при 570 нм на спектрофотометре «Spectrostar Nano». Концентрацией предотвращения образования биопленки (biofilm prevention concentration – BPC) считали наименьшую концентрацию лизостафина или ванкомицина, при которой ОП экстрактов красителя опытных лунок не имела статистической значимой разницы с ОП лунок отрицательного контроля.

Биопленки MRSA формировали в полистироловых 96-луночных плоскодонных планшетах. Для этого в лунки планшета вносили 180 мкл стерильного бульона LB с 1 % глюкозы и 20 мкл взвеси суточной культуры *S. aureus* (0,5 по шкале МакФарланда). Через 24 часа среду сливали, лунки промывали. После высушивания лунки с биопленками обрабатывали лизостафином (0,125-8 мг/л) или ванкомицином (0,125-256 мг/л) и оставляли на 2 часа. Затем повторяли промывку и в каждую лунку с биопленкой добавляли среду LB с 1 % глюкозы (190 мкл) и 10 мкл водного раствора резазурина (Eugen). Микропланшеты инкубировали в течение 2 часов в темноте при 37 °C. Изменение цвета с синего на розовый указывает на восстановление резазурина живыми бактериальными клетками. За значение минимальной концентрации ингибирования биопленки (minimal biofilm inhibitory concentration – MBIC) принимали наименьшую концентрацию лизостафина, при которой не регистрировали изменение окраски резазурина, подтверждающее угнетение метаболической активности стафилококков.

Для определения минимальной концентрации эрадикации биопленки (minimum biofilm eradication concentrations – MBEC), биопленки формировали как



описано выше. Через сутки промытые и высушенные лунки с биопленками обрабатывали лизостафином или ванкомицином (4-256 мг/л) и оставляли на 24 часа. Через сутки планшет дважды промывали и окрашивали. Биомассу сформированных пленок оценивали по оптической плотности (ОП) полученных экстрактов при 570 нм на спектрофотометре «Spectrostar Nano». За значение МВЕС принимали наименьшую концентрацию при которой ОП экстрактов красителя

опытных лунок не имела статистической значимой разницы с ОП лунок отрицательного контроля.

Для всех показателей рассчитывали минимальные концентрации, ингибирующие 50 % и 90 % бактериальных штаммов или их биопленок.

Статистический анализ полученных результатов выполняли с помощью программы GraphPad Prism 9.0 (США) с использованием t-теста. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

МПК лизостафина в отношении *S. aureus* ATCC 43300 составила 0,125 мг/л. Показатель МПК_{50/90} лизостафина в отношении клинических штаммов MRSA был в несколько раз ниже, чем ванкомицина ($p=0,0002$). Диапазон восприимчивости изолятов варьировал от 0,06 до 0,5 мг/л для лизостафина и от 0,125 до 1,5 для ванкомицина (табл. 1).

Таблица 1 – Показатели минимальных ингибирующих концентраций лизостафина и ванкомицина в отношении метициллин-резистентных *S. aureus* и их биопленок ($n=24$)

Показатель	Лизостафин (мг/л)	Ванкомицин (мг/л)
МПК _{50/90}	0,25/0,5	1/1,5
ВРС _{50/90}	1/4	2/4
МВІС _{50/90}	1/8	-/-
МВЕС _{50/90}	4/8	128/более 256

Примечание. МПК – минимальная подавляющая концентрация; ВРС (biofilm prevention concentration) – концентрацией предотвращения образования биопленки; МВІС (minimal biofilm inhibitory concentration) – минимальная концентрация, ингибирования биопленки; МВЕС (minimal biofilm eradication concentration) – минимальная концентрация эрадикации биопленки.

Сравнительная оценка влияния лизостафина и ванкомицина на биопленкообразование MRSA

Эффективность ванкомицина в предупреждении формирования биопленок MRSA регистрировали в концентрации от 1 мг/л, в то время как активные концентрации лизостафина были в несколько раз ниже. Так, 1 мг/л лизостафина практически полностью подавлял рост бактерий и возможность сформировать зрелую биопленку. Кроме того, определена значимо большая ($p=0,0011$) ингибирующая биопленкообразование активность лизостафина в концентрациях 0,125-0,5 мг/л в сравнении с ванкомицином (рис. 1). Показатель ВРС₅₀ составил для лизостафина 1 мг/л, ВРС₉₀ – 4 мг/л (табл. 1), для ванкомицина соответственно – 2 и 4 мг/л.

Все тестируемые штаммы MRSA обладали способностью формировать биопленки различной степени выраженности (рис. 2).

Тестируемые концентрации лизостафина предотвращали образование биопленок всех изученных изолятов MRSA вне зависимости от степени их

биопленкообразующей способности (рис. 3). Восприимчивость к лизостафину была выше у штаммов со слабой биопленкообразующей способностью. Так, для данных культур, показатель ВРС₉₀ составил 0,5 мг/л, что в 4 раза ниже, чем для изолятов с умеренной и сильной способностью формировать биопленки. Минимальный показатель ВРС лизостафина среди всех тестируемых изолятов составил 0,125 мг/л, максимальный – 4, ванкомицина соответственно – 1 мг/л и 4 мг/л.

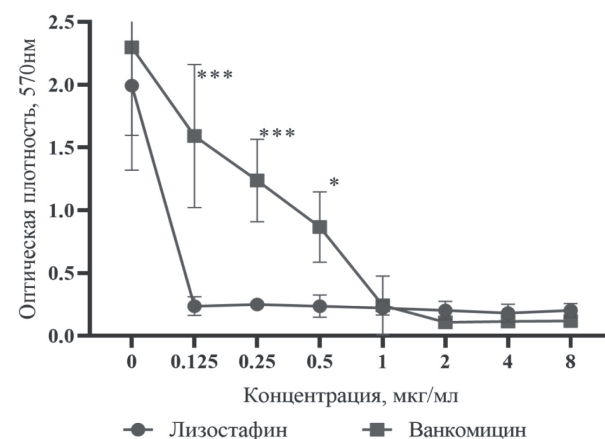


Рис. 1. Биомасса MRSA-биопленок ($n=24$), сформированных в присутствии лизостафина или ванкомицина

Примечание. * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$.



Рис. 2. Распределение MRSA ($n=24$) по степени биопленкообразующей способности, %

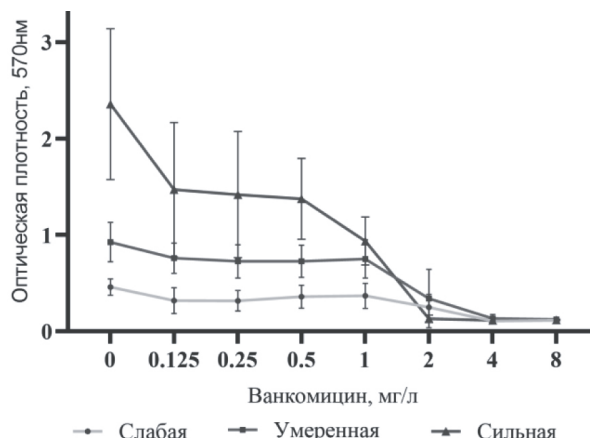
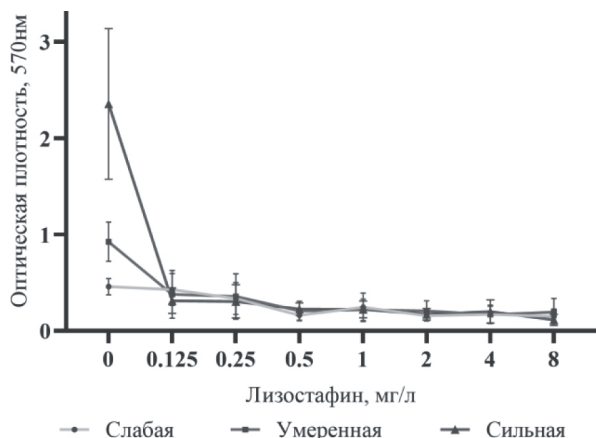


Рис. 3. Биомасса биопленок штаммов MRSA с различной способностью биопленкообразованию, сформированных в присутствии различных концентраций лизостафина и ванкомицина

Сравнительная оценка влияния лизостафина и ванкомицина на 24-часовые биопленки MRSA

Для ванкомицина значения MBIC не были определены, так как превышали максимальную тестируемую концентрацию. Установлено, что ванкомицин не оказывал влияния на бактериальные клетки в составе уже сформированной биопленки (рис. 4). В свою очередь, лизостафин характеризовался выраженным антистафилококковым действием на сильные формы MRSA, причем для 8 штаммов MBIC составила 0,5 мг/л.

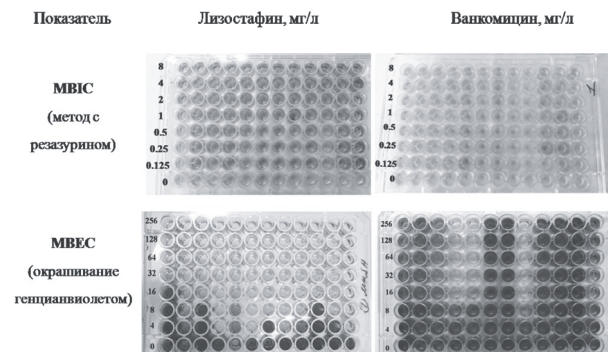


Рис. 4. Определение показателей MBIC и MBEC лизостафина и ванкомицина

Аналогичная закономерность выявлена при инкубации 24-часовой биопленки с тестируемыми веществами в течение суток (рис. 5). Для ванкомицина не удалось зарегистрировать активность в отношении биопленок большего числа изолятов MRSA в тестируемых концентрациях. В свою очередь минимальная концентрация эрадикации биопленки для 50 % культур (MBEC₅₀) была определена для обоих соединений. Показатель MBEC лизостафина превышал в десятки раз MBEC ванкомицина в отношении суточных MRSA-биопленок (табл. 1, рис. 4).

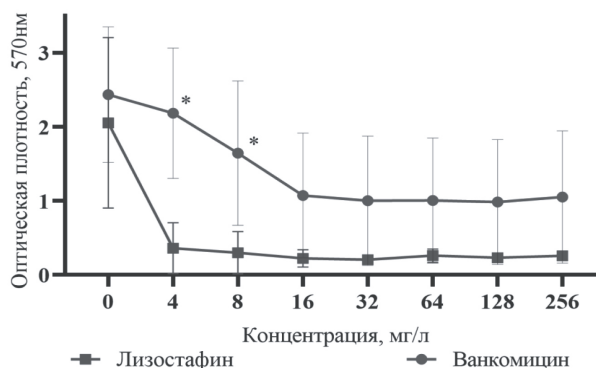


Рис. 5. Биомасса суточных биопленок MRSA после 24 часов инкубации с лизостафином или ванкомицином

Примечание. * – $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Около 80 % хронических и рецидивирующих бактериальных инфекций связаны с микробными биопленками (BAI – biofilm-associated infections) [3]. Сопротивляемость биопленочных микроорганизмов неблагоприятным факторам включает ряд механизмов, в том числе метаболическую гетерогенность, реакцию на стресс, регуляцию насоса оттока, захват и инактивацию антибиотиков во внеклеточном матриксе, межбактериальную коммуникацию, повышенную мутабельность и обмен генетическим материалом [3]. Клетки *S. aureus* характеризуются выраженной способностью прикрепляться к различным биотическим

субстратам, что в случае адгезии к поверхности эукариотических клеток приводит к дальнейшей интернализации бактерий [13]. Если же стафилококки прикрепилась к поверхности имплантированной конструкции, сначала бактерии формируют микроколонии, синтезируют компоненты межклеточного матрикса (полисахариды, белки, внеклеточная ДНК) и формируют зрелую биопленку [14]. В том и другом случаях бактерии успешно избегают воздействия факторов иммунной защиты и антибиотиков, а инфекционный процесс часто приобретает персистирующий характер [5].



Формирование биопленки завершается в несколько этапов и любое воздействие на стадии процесса приводит к нарушению процесса формирования биопленки. Активные соединения могут действовать как блокаторы Quorum sensing и вмешиваться в функционирование его рецепторов, или влиять на бактериальную адгезию и гидрофобность клеток. Ингибиторы адгезии могут служить лучшими агентами против образования биопленки, потому что в случае, если патогены прерывают прикрепление, следующие стадии образования биопленки не реализуются [6]. В нашем исследовании лизостафин и ванкомицин успешно предупреждали развитие биопленок метициллин-резистентными *S. aureus* и показатель ВРС_{50/90} составил 1/4 мг/л и 2/4 мг/л соответственно за счет их выраженного антистафилококкового действия.

Выполненное исследование демонстрирует значительное преимущество в эффективности антибиопленочного действия лизостафина в сравнении с ванкомицином. Установлено, что в отношении сесильных бактерий в составе суточных биопленок ванкомицин в тестируемых концентрациях не был эффективен, в то время как лизостафин показал значительный бактерицидный эффект, и в концентрации 8 мг/л ингибировал 90 % изученных штаммов MRSA (MBIC_{50/90} 1/8). В исследовании Angelopoulou также не выявили возможность ванкомицина в концентрациях 60-256 мг/л оказывать действие на сесильные бактерии мультирезистентных *S. aureus* в сформированных биопленках [15]. С другой стороны, в научной литературе показана высокая активность лизостафина в отношении устойчивых к антибиотикам *S. aureus*, таких как MRSA, VISA, VRSA [16], а также способность эндопептидазы уничтожать планктонные и сесильные формы бактерий, тем самым ингибировать рост *S. aureus*

в биопленках [17]. Кроме того, в недавнем исследовании было показано, что лизостафин дозозависимо ингибирует адгезию *S. aureus* к поверхности эукариотических клеток за счет подавления экспрессии *agrA* и других генов вирулентности стафилококков [18].

В нашем исследовании лизостафин показал себя активным антибиопленочным ферментом, оказывающим выраженное действие против планктонных клеток MRSA и бактерий в составе сформированной биопленки. Однако, несмотря на многочисленные результаты успешного тестирования эндопептидазы *in vitro/in vivo*, применение лизостафина в клинической практике ограничено вследствие его выраженной иммуногенности и быстрой инактивации специфическими антителами. В настоящее время несколько независимых групп изучают возможность применения деиммунизированного лизостафина для лечения стафилококковых инфекций [9,19]. Кроме того, существует возможность приобретения стафилококками устойчивости к лизостафину [20].

Таким образом, основными направлениями борьбы с MRSA-инфекциями является поиск, разработка новых средств и методов для эрадикации патогена и превентивности формирования зрелой биопленки. В свою очередь, потенциальное расширение арсенала действующих эффективных средств борьбы с инфекциями, связанными с образованием биопленок, будет способствовать подбору адекватных терапевтических стратегий и профилактике рецидивов хронических заболеваний, в частности связанных с ортопедическими имплантатами. Несмотря на потенциальные трудности, дальнейшие исследования лизостафина крайне перспективны в связи с его высокой активностью в отношении резистентных к антибиотикам *S. aureus*.

Список литературы

1. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // Lancet. – 2022. – № 399 (10325). – P.629-655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
2. Chen H., Zhang J., He Y., Lv Z., Liang Z., Chen J., Li P., Liu J., Yang H., Tao A., Liu X. Exploring the Role of Staphylococcus aureus in Inflammatory Diseases // Toxins (Basel). – 2022. – № 14 (7). – P. 464 (1-43). doi: 10.3390/toxins14070464.
3. Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M.A., Hussain T., Ali M., Rafiq M., Kamil M.A. Bacterial biofilm and associated infections // J. Chin. Med. Assoc. – 2018. – № 81. – P. 7-11. doi: 10.1016/j.jcma.2017.07.012.
4. Божкова С.А., Гордина Е.М., Марков М.А., Афанасьев А.В., Артюх В.А., Малафеев К.В., Иванькова Е.М. Влияние комбинации ванкомицина с препаратом серебра на длительность антимикробной активности костного цемента и формирование биопленки штаммом MRSA // Травматология и ортопедия России. – 2021. – № 27 (2). – P. 54-64. doi:10.21823/2311-2905-2021-27-2-54-64.
 Bozhkova S.A., Gordina E.M., Markov M.A., Afanasyev A.V., Artyukh V.A., Malafeev K.V., Ivankova E.M. Effect of a combination of vancomycin with a silver preparation on the duration of antimicrobial activity of bone cement and the formation of a biofilm by a MRSA strain // Traumatology and Orthopedics of Russia. – 2021. – № 27 (2). – P. 54-64. Doi:10.21823/2311-2905-2021-27-2-54-64.
5. Schilcher K., Horswill A.R. Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies // Microbiol Mol Biol Rev. – 2020. – № 84 (3). – e00026-19. doi: 10.1128/MMBR.00026-19.
6. Nasser A., Dallal M.M.S., Jahanbakhshi S., Azimi T., Nikouei L. Staphylococcus aureus: Biofilm Formation and Strategies Against it // Curr Pharm Biotechnol. – 2022. – № 23 (5). – P. 664-678. doi: 10.2174/1389201022666210708171123.



7. Cong Y., Yang S., Rao X. Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features // J Adv Res. – 2019. – № 21. – P. 169-176. doi: 10.1016/j.jare.2019.10.005.
8. Fang Y., Kirsch J.R., Li L., Brooks S.A., Heim S., Tan C., Eszterhas S., Cheng H.D., Zhao H., Xiong Y.Q., Griswold K.E. Deimmunized Lysostaphin Synergizes with Small-Molecule Chemotherapies and Resensitizes Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* to β -Lactam Antibiotics // Antimicrob Agents Chemother. – 2021. – № 65 (3). – e01707-20. DOI: 10.1128/AAC.01707-20.
9. Mitkowski P., Jagielska E., Nowak E., Bujnicki J.M., Stefaniak F., Niedziałek D., Bochtler M., Sabała I. Structural bases of peptidoglycan recognition by lysostaphin SH3b domain // Sci Rep. – 2019. – № 9 (1). – P. 5965. doi: 10.1038/s41598-019-42435-z.
10. Kim J.H., Chaurasia A.K., Batool N., Ko K.S., Kim K.K. Alternative Enzyme Protection Assay To Overcome the Drawbacks of the Gentamicin Protection Assay for Measuring Entry and Intracellular Survival of *Staphylococci* // Infect Immun. – 2019. – № 87 (5). – e00119-19. doi: 10.1128/IAI.00119-19.
11. Mohamed M.F., Hamed M.I., Panitch A., Seleem M.N. Targeting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with short salt-resistant synthetic peptides // Antimicrob Agents Chemother. – 2014. – № 58 (7). – P. 4113-4122. DOI: 10.1128/AAC.02578-14.
12. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022.
13. Stracquadanio S., Musso N., Costantino A., Lazzaro L. M., Stefani S., & Bongiorno D. *Staphylococcus aureus* Internalization in Osteoblast Cells: Mechanisms, Interactions and Biochemical Processes. What Did We Learn from Experimental Models? // Pathogens. – 2021. – № 10 (2). – P. 239. doi: 10.3390/pathogens10020239.
14. Sionov R.V., Steinberg D. Targeting the Holy Triangle of Quorum Sensing, Biofilm Formation, and Antibiotic Resistance in Pathogenic Bacteria // Microorganisms. – 2022. Jun 16; № 10 (6). – P. 1239. doi: 10.3390/microorganisms10061239.
15. Angelopoulou A., Field D., Pérez-Ibarreche M., Warda A.K., Hill C., Ross R.P. Vancomycin and nisin A are effective against biofilms of multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* isolates from human milk // PLoS One. – 2020. – № 15 (5). – P.e0233284. doi: 10.1371/journal.pone.0233284.
16. Bastos M.D., Coutinho B.G., Coelho M.L. Lysostaphin: A *Staphylococcal* Bacteriolysin with Potential Clinical Applications // Pharmaceuticals (Basel). – 2010. – № 3 (4). – P. 1139-1161. doi: 10.3390/ph3041139.
17. Wu J.A., Kusuma C., Mond J.J., Kokai-Kun J.F. Lysostaphin disrupts *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms on artificial surfaces // Antimicrob. Agents Chemother. – 2003. – № 47. – P. 3407-3414. DOI: 10.1128/AAC.47.11.3407-3414.2003.
18. Yue Y., Chen K., Sun C., Ahmed S., Ojha S.C. Antimicrobial peptidase lysostaphin at subinhibitory concentrations modulates staphylococcal adherence, biofilm formation, and toxin production // BMC Microbiol. – 2023. – № 23 (1). – P.311. doi: 10.1186/s12866-023-03052-z.
19. Zhao H., Brooks S.A., Eszterhas S., Heim S., Li L., Xiong Y.Q., Fang Y., Kirsch J.R., Verma D., Bailey-Kellogg C., Griswold K.E. Globally deimmunized lysostaphin evades human immune surveillance and enables highly efficacious repeat dosing // Sci Adv. – 2020. – № 6 (36). – P.eabb9011. doi: 10.1126/sciadv.abb9011.
20. Batool N., Ko K.S., Chaurasia A.K., Kim K.K. Functional Identification of Serine Hydroxymethyltransferase as a Key Gene Involved in Lysostaphin Resistance and Virulence Potential of *Staphylococcus aureus* Strains // Int J Mol Sci. – 2020. – № 21 (23). – P. 9135. DOI: 10.3390/ijms21239135.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 12.07.2024.

The article was accepted for publication 12.07.2024.

