

## АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОПЕПТИДА – ЭМЕРИЦИЛЛИПСИНА А, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ *Emericellopsis alkalina*, В ОТНОШЕНИИ БИОПЛЕНКООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

© 2020 г. В. С. Садыкова<sup>1,2,\*</sup>, И. А. Гаврюшина<sup>1,2</sup>, А. Е. Куварина<sup>1,2</sup>, Н. Н. Маркелова<sup>3,4</sup>,  
Н. Г. Седых<sup>4</sup>, М. Л. Георгиева<sup>1,5</sup>, А. С. Барашкова<sup>2</sup>, Е. А. Рогожин<sup>1,2,6</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, 119021 Россия

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва, 117997 Россия

<sup>3</sup>Российский научный центр рентгенорадиологии Минздрава России, Москва, 117997 Россия

<sup>4</sup>Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, 111123 Россия

<sup>5</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

<sup>6</sup>Тюменский государственный университет, Тюмень, 625003 Россия

\*e-mail: sadykova\_09@mail.ru

Поступила в редакцию 12.11.2019 г.

После доработки 20.12.2019 г.

Принята к публикации 23.12.2019 г.

Изучена антимикробная активность нового нерибосомального пептида эмерициллипсина А в отношении биопленкообразующих патогенных грамположительных и грамотрицательных клинических бактерий. Впервые показана для пептидов из группы пептаиболов способность к ингибированию патогенных бактерий, образующих биопленки. Наиболее выраженный эффект был продемонстрирован в отношении грамположительных форм, что определяет специфичность антибактериального действия данного пептида.

**Ключевые слова:** биопленкообразующие бактерии, антимикробные пептиды, эмерициллипсин А, алкалофильные грибы, *Emericellopsis alkalina*, ингибирование образования биопленок

**DOI:** 10.31857/S0555109920030101

Во всем мире серьезную угрозу здоровью населения представляют инфекционные заболевания, микроорганизмы-возбудители которых способны к образованию биопленок, являющихся одновременно фактором патогенности и резистентности бактерий. Необходимо отметить, что такие бактерии составляют ~80% всех патогенных видов [1]. Инфекции, при которых образуются биопленки, с трудом поддаются лечению, поскольку обладают высокой устойчивостью ко многим антибиотикам и антимикробным препаратам, применяемым в клинической медицине, а также способностью преодолевать защитные механизмы макроорганизмов [1, 2]. Установлено, что резистентность возбудителей в составе биопленки возрастает во много раз по сравнению с планктонными микроорганизмами, поскольку за счет ее матрикса фактически создается так называемый защитный барьер, препятствующий эффективному контакту действующего вещества с клетками-мишенями [3]. В последнее время активно разрабатываются новые подходы к выявлению и изучению биопленок,

меняется тактика антибиотикотерапии, а также ведется поиск новых антибиотиков, ингибиторов межклеточной сигнализации, ферментов и других методов разрушения уже сформировавшихся биопленок. В число наиболее опасных инфекционных биопленкообразующих бактерий – возбудителей инфекционных заболеваний включены грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus* spp. с множественной лекарственной устойчивостью. Среди грамотрицательных бактерий – возбудителей госпитальных инфекций наибольшую опасность представляют *Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae*.

Эти патогенные микроорганизмы преимущественно обнаруживаются в больничной среде и демонстрируют режим выживания с множественной лекарственной устойчивостью, который усложняет антимикробную терапию с использованием конвенциональных антибиотиков [4, 5].

Антимикробные пептиды (АМП) в последнее десятилетие вызывают наибольший интерес и являются основными кандидатами в области поис-

ка и разработки, альтернативных традиционным, лекарственных средств для борьбы с микроорганизмами – возбудителями инфекционных заболеваний, в том числе вызываемых штаммами бактерий, образующими биопленки. На сегодняшний день все зарегистрированные природные и синтетические АМП собраны в различных базах данных, например, в хранилище данных антимикробных пептидов (DRAMP), которое содержит более 4500 последовательностей [6]. АМП, выделенные из различных источников, активно изучаются, в том числе, как соединения, действующие на биопленки патогенных бактерий. В течение последнего десятилетия ряд АМП, выделенных из животных, показал антибиопленочную активность по отношению к патогенным видам бактерий, приводящую либо к ингибированию формирования, либо к разрушению уже образовавшейся биопленки. Одним из первых пептидов, обладающих антибиопленочной активностью, был кателицидин человека LL-37 [7]. Этот линейный пептид является одним из наиболее изученных, в субингибирующих концентрациях проявляющих антибиопленочную активность по отношению к планктонному виду *Pseudomonas aeruginosa* [8]. Примечательно, что данный пептид практически не обладает ингибирующей активностью в отношении планктонных бактерий, но проявляет специфическое антибиопленочное действие. Был проведен ряд исследований, показавших, что обработка стафилококков антимикробными тромбоцитарными пептидами способствует изменению их физико-химических свойств (гидрофилизация поверхности и повышение электрокинетического потенциала) и снижению биопленкообразования [9]. Так, врожденный защитный регуляторный пептид IDR-1018, выделенный из сыворотки крови крупного рогатого скота, показал широкий спектр действия в отношении грамположительных и грамотрицательных патогенов, образующих биопленки [10].

Следует отметить, что АМП природного происхождения, выделенные из грибов, являются одними из важнейших, активно изучаемых источников новых эффективных антибиотиков. Им свойственны широкий спектр действия в отношении условно-патогенных и патогенных бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов, как правило, низкая токсичность, к ним не формируется резистентность. При этом они обладают способностью ингибировать рост микроорганизмов, во многих случаях посредством механизмов, отличных от большинства традиционных антибиотиков [6]. Однако до настоящего времени в литературе нет сведений о влиянии АМП грибного происхождения на бактерии, образующие биопленки. Выделение и описание нового алкалофильного таксона грибов *Emericellopsis alkalina* Bilanenko & Georgieva из засоленных почв [11] показало широкие пер-

спективы для поиска новых пептидных антибиотиков. Проведенный скрининг различных изолятов данного вида на способность к синтезу антибиотических веществ, позволил выявить перспективный с биотехнологической точки зрения штамм ВКПМ F-1428, характеризующийся уникальным комплексом пептидов с антимикробной активностью в отношении грибов и бактерий. Приоритетным результатом проведенной работы стало выделение и структурно-функциональная характеристика нового, ранее не описанного, секретируемого антимикробного пептида – эмерициллипсина А, являющегося продуктом нерибосомального синтеза и относящегося к группе пептаиболов [2, 12]. Эмерициллипсин А обладает противогрибковой активностью *in vitro* в отношении клинических изолятов патогенных видов дрожжей и грибов – возбудителей аспергиллеза и кандидоза у больных туберкулезом и СПИД, при этом, согласно проведенным экспериментам, обладает относительно низкой цитотоксичностью по отношению к культуре соматических эукариотических клеток млекопитающих [13, 14].

Цель работы – оценка потенциальной антибактериальной активности эмерициллипсина А в отношении клинических биопленкообразующих бактерий – основных возбудителей госпитальных инфекций, в том числе влияние данного пептида на формирование и разрушение биопленок.

## МЕТОДИКА

**Культивирование штамма – продуцента.** Штамм *Emericellopsis alkalina* ВКПМ F-1428 (Hydrocreales, Ascomycota) депонирован в ВКПМ, коллекции “Грибы экстремальных местообитаний” кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и коллекции продуцентов Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, как продуцент комплекса антимикробных пептидов. Штамм *E. alkalina* синтезирует комплекс липофильных соединений пептидной природы, преобладающим среди которых является липопептаибол эмерициллипсин А, обладающий антимикробным действием в отношении широкого спектра дрожжевых и мицелиальных грибов, а также грамположительных бактерий [15].

Культивирование штамма для накопления эмерициллипсина А осуществляли в стационарных условиях в течении 14 сут в колбах Эрленмейера на специализированной жидкой щелочной среде, подобранной ранее [2]. В качестве посевного материала использовали 5-суточную культуру гриба, выращенную на агаризованной щелочной среде [2]. Мицелий и споры отделяли от культуральной жидкости центрифугированием.

**Выделение эмерициллипсина А.** Эмерициллипсин А выделяли из культуральной жидкости по ранее разработанной схеме выделения, описанной в работах [2, 12]. Разделение активных фракций, выделение и очистку пептида проводили последовательно методами экстракции, прямо-фазной и гидрофобной хроматографии, как описано ранее. Для выделения индивидуального компонента использовали аналитическую обращено-фазовую ВЭЖХ. Обогащенный концентрат, полученный после растворения упаренного этилацетатного концентрата культуральной жидкости, наносили на колонку XBridge ВЕН 4.6 × 250 мм ("Waters", Ирландия) с неподвижной фазой С18 и осуществляли фракционирование в градиенте повышения концентрации ацетонитрила в воде с добавлением 0.1% трифторуксусной кислоты: 16–28% – за 12 мин; 28–55% – за 27 мин; 55–75% – за 20 мин и 75–85% – за 10 мин, с последующим изократическим элюированием в течение 25 мин. Детектирование поглощения разделяемых веществ осуществляли при трех длинах волн (214, 247 и 280 нм). Эмерициллипсин А детектировали по поглощению при длине волны 214 нм и времени удержания согласно протоколу, описанному в работе [12].

**Тест-микроорганизмы.** Клинические изоляты бактерий *Staphylococcus aureus* (4 изолята), *Enterococcus faecalis* (4 изолята), *E. faecium* (1 изолят), *Acinetobacter baumannii* (2 изолята), *Klebsiella pneumoniae* (1 изолят), выделенные из клинического материала различных пациентов, были взяты из коллекции культур лаборатории инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ЦНИИ эпидемиологии (Москва, Россия). Стафилококки характеризовались чувствительностью к аминогликозидам, фторхинолонам, гликопептидам и β-лактамам, за исключением пенициллинов; энтерококки – к ампициллину, ванкомицину, линезолиду, нитрофурантоину (за исключением резистентности *E. faecium* к ампициллину); *K. pneumoniae* – к цефалоспорином, карбапенемам, аминогликозидам, фторхинолонам. Изоляты *A. baumannii* с множественной лекарственной устойчивостью сохраняли чувствительность только к колистину. Тест-культуры клинических изолятов *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* и *Candida albicans*, выделенные из биологических жидкостей особей крупного рогатого скота, были взяты из коллекции кафедры микробиологии и заразных болезней Оренбургского государственного аграрного университета.

**Формирование *in vitro* биопленок.** Тестируемые бактерии выращивали на плотной питательной среде 18 ч при температуре 37°C. Из выросших культур готовили бактериальную суспензию плотностью 0.5 мкФ в бульоне Мюллер-Хинтона, которую затем разбавляли до концентрации 10<sup>5</sup> КОЕ/мл. Приготовленный инокулят тестируемых бакте-

рий добавляли по 150 мкл в лунки 96-луночного планшета, в которые помещали стерильные тefлоновые кубики размером 4 × 4 мм для формирования на их поверхности биопленок. Инкубировали в течение 20 ч на орбитальном шейкере при скорости вращения 110 об./мин и температуре 35°C [15, 16].

**Антимикробная активность, ассоциированная с разрушением сформированных биопленок (антибиопленочная активность).** Кубики, содержащие биопленки, переносили в лунки 96-луночного микротитровального планшета с 200 мкл серийных двукратных разведений АМП и инкубировали в течение 18 ч при 37°C. Для определения минимальной биоцидной концентрации пептида (МБК) в отношении дисперсных клеток биопленки оценивали самую низкую его концентрацию, которая обеспечивала выживаемость субкультуры <0.1%. С этой целью отбирали аликвоты по 10 мкл из лунок без видимого роста, проводили посев на плотные питательные среды и инкубировали в течение 20 ч при 37°C. Тefлоновые кубики промывали для удаления неприкрепленных бактериальных клеток, а затем механически разрушали биопленки на поверхности кубиков. Для определения минимальной биоцидной концентрации АМП, уничтожающей биопленку (МБКб), разрушенные биопленки рекультивировали в бульоне Мюллера-Хинтона и определяли возобновление роста бактерий [16].

**Антимикробная активность *in vitro*, ассоциированная с подавлением формирования биопленок.** Изоляты бактерий инкубировали при 37°C, 24 ч в присутствии различных концентраций эмерициллипсина А в 96-луночных планшетах, в лунки которого помещали тefлоновые кубики. Каждая лунка планшета с кубиком содержала 200 мкл инокулята плотностью 10<sup>5</sup> КОЕ/мл. После инкубации отработанную среду аспирировали, а кубики промывали раствором для удаления неприкрепленных бактерий и высушивали на воздухе. Образование связанной с поверхностью кубиков биопленки анализировали путем их окрашивания 0.1% водным раствором кристаллического фиолетового в течение 5 мин и дальнейшим экстрагированием кристаллического фиолетового этанолом. Затем измеряли оптическую плотность полученных растворов при 595 нм (ОП<sub>595</sub>). При обработке результатов оптическая плотность, полученная в результате окрашивания кубиков без биопленки, не учитывалась [16, 17].

**Статистический анализ.** Результаты анализа ингибирования образования биопленки представлены в виде средних значений ± стандартные отклонения. Для сравнения различий между контрольными и обработанными антимикробными биопленками использовался однофакторный дисперсионный анализ с помощью множественного

сравнительного теста Бонферрони. Значение  $p < 0.005$  считалось статистически значимым [18].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Антибактериальная активность эмерициллипсина А.** Как было отмечено ранее [12] эмерициллипсин А представляет собой пептидный антибиотик, обладающий разнонаправленным спектром антимикробного действия. Фунгицидная активность выражается в неспецифическом действии на эукариотические патогенные дрожжевые и мицелиальные виды грибов, обладающие высоким уровнем резистентности к традиционным противогрибковым препаратам группы азолов и макроциклов с клеточной мембраной. Антибактериальный эффект антибиотика менее выражен, чем антифунгальный, и имеет явно выраженную специфичность. Стоит отметить, что ингибирующее действие данного вещества направлено преимущественно на грамположительные бактерии: так, активность по отношению к *S. aureus* и *B. cereus* (4 и 16 мкг/мл соответственно) сопоставима с эффектом, достигаемым при применении ванкомицина (3 и 12 мкг/мл, соответственно) [12], тогда как клинические изоляты *E. faecalis* подавлялись на уровне МБК лишь при 40 мкг/мл. Характерно, что антимикробная активность эмерициллипсина А против грамотрицательных форм была гораздо менее выражена и МБК превышала 300 мкг/мл. По отношению к таким бактериям характер действия изучаемого пептидного токсина можно классифицировать как бактериостатический, не ассоциированный непосредственно с взаимодействием с клеточной оболочкой.

**Влияние эмерициллипсина А на разрушение биопленок, сформированных бактериями.** С целью исследования возможного механизма антибактериального действия эмерициллипсина А была проверена его активность в отношении планктонных и прикрепленных клеток у культур грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов и образованных ими биопленок (табл. 1).

Планктонные клетки тестируемых клинических бактерий показали различную чувствительность к пептиду, значения составили МБК от 12.5 до 50.0 мкг/мл, что в отдельных случаях не превышало концентрации клинически эффективных антибиотиков, за пределами которых определяется устойчивость бактерий, и рекомендованных EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing): амикацина ( $R > 16$  мкг/мл), фосфомицина ( $R > 32$  мкг/мл) в отношении стафилококков; нитрофурантоина ( $R > 64$  мкг/мл) в отношении *E. faecalis*.

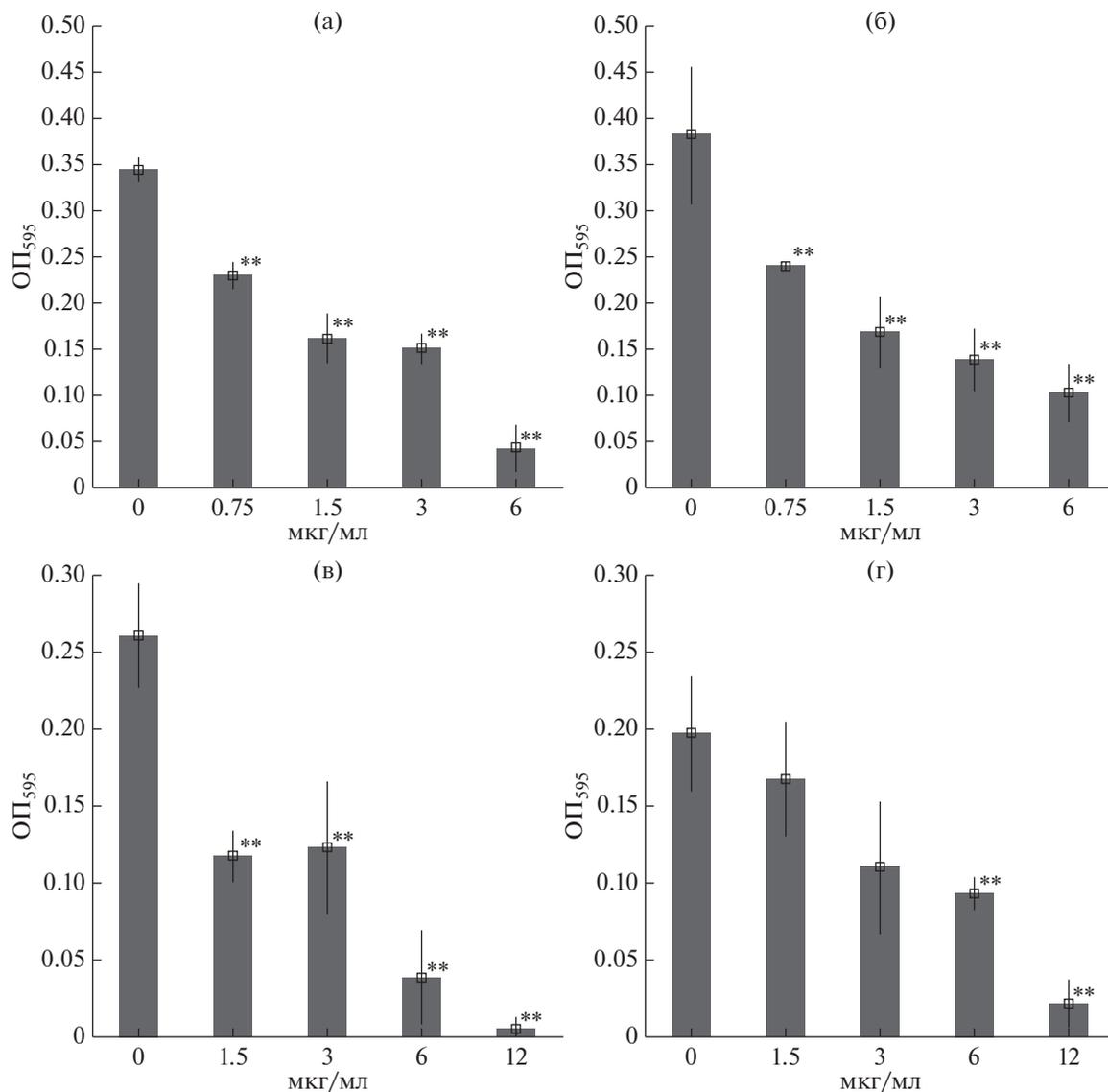
Антибиопленочная активность пептида находилась в диапазоне от 50 до 200 мкг/мл для грамположительных бактерий (*S. aureus*, *E. faecium*,

**Таблица 1.** Значение МБК (для планктонных (МБКп) и прикрепленных (МБКпр) клеток) и МБКб эмерициллипсина А в отношении клинических изолятов бактерий

Изоляты бактерий	МБКп	МБКпр	МБКб
	мкг/мл		
<i>S. aureus</i> 1	12.5	25	100.0
<i>S. aureus</i> 2	12.5	25	50.0
<i>S. aureus</i> 3	25.0	100	100.0
<i>S. aureus</i> 4	12.5	25	100.0
<i>E. faecium</i> 5	25.0	100	200.0
<i>E. faecalis</i> 6	50.0	100	200.0
<i>E. faecalis</i> 7	50.0	100	200.0
<i>E. faecalis</i> 8	25.0	100	200.0
<i>E. faecalis</i> 9	25.0	100	200.0
<i>A. baumannii</i> 10	50.0	>200	>200.0
<i>A. baumannii</i> 11	25.0	200	>200.0
<i>K. pneumoniae</i> 12	25.0	200	>200.0

*E. faecalis*) и превышала 200 мкг/мл – для грамотрицательных (*A. baumannii*, *K. pneumoniae*), что свидетельствовало о слабом действии эмерициллипсина А на предварительно сформированные биопленки клинических грамотрицательных бактерий. Наблюдаемое повышение устойчивости бактериальных биопленок к эмерициллипсину А, по сравнению с планктонными культурами, согласуется со многими данными по резистентности биопленок к любым антимикробным агентам [15, 16]. Исследуемый антибиотик не обладал способностью к активному взаимодействию с экзополисахаридным матриксом, составляющим основу бактериальных биопленок, что, по-видимому, определяется, в первую очередь, отсутствием функциональных групп на его поверхности.

**Влияние эмерициллипсина А на формирование биопленок клиническими изолятами бактерий.** Установлено, что эмерициллипсин А ингибировал образование биопленок клиническими изолятами *S. aureus* (рис. 1). Максимальный эффект наблюдался при концентрациях пептида, соответствующих 1/2 МБК и составил от 73.2 до 97.8%, в зависимости от изолята. При концентрации 1.5 мкг/мл образование биопленки достоверно уменьшилось на 53.0, 56.0, 53.1% соответственно *S. aureus* 1, 2, 3. В отношении *E. faecalis* 6, 7, 8, 9 ингибирующий эффект наблюдался при 1/2 МБК и составил 87.6, 94.8, 69.3, 98.2% соответственно (рис. 2). Концентрации пептида в 8 раз ниже МБК способствовали уменьшению образования биопленки *E. faecalis* 6, 7, 8, 9 на 56.8, 68.0, 30.0, 51.4% соответственно. Для клиниче-

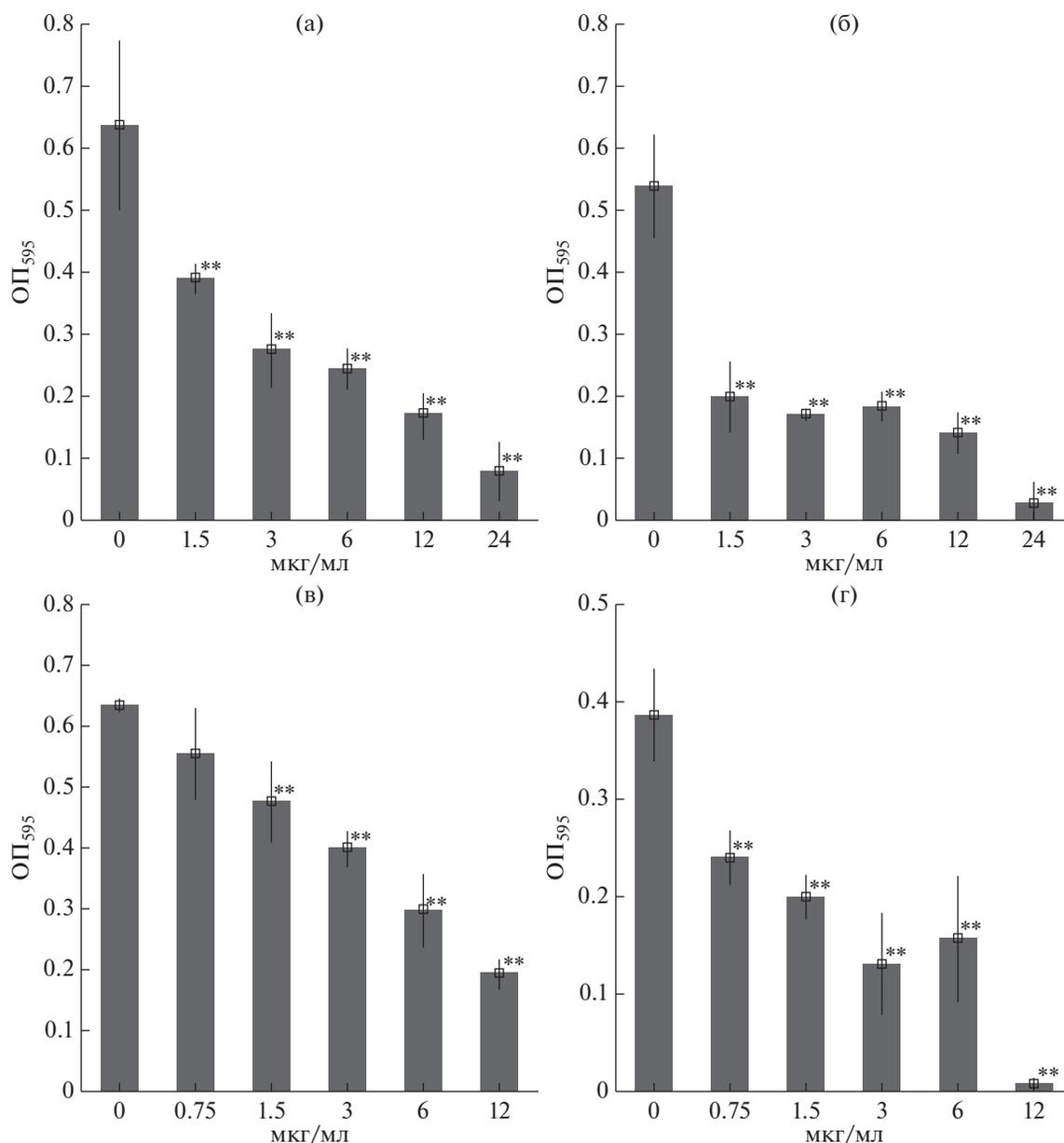


**Рис. 1.** Анализ образования биопленки (OP<sub>595</sub>) штаммами *S. aureus* при различных концентрациях эмерициллипсина А (мкг/мл): а – *S. aureus* 1; б – *S. aureus* 2; в – *S. aureus* 3; г – *S. aureus* 4. \*\* Концентрации пептида, при которых наблюдались статистически значимые различия между контрольными биопленками и биопленками, образующимися в присутствии пептида ( $p < 0.005$ ).

ского изолята *E. faecium* и грамотрицательных бактерий *A. baumannii* 11, *K. pneumoniae* 12 достоверное ингибирование образования биопленок наблюдалось только при 1/2 МБК и составило 39.0, 53.2, 57.1% соответственно.

Таким образом, субингибирующие концентрации эмерициллипсина А предотвращали образование бактериальных биопленок *in vitro* в отношении грамположительных бактерий наиболее эффективно, чем в отношении грамотрицательных, при этом наблюдалось достоверное различие как между клиническими изолятами одного вида бактерий, так и между изолятами различной видовой принадлежности.

В работе впервые показано влияние анти-микробных метаболитов грибов из группы пептабиолов на способность к ингибированию патогенных форм бактерий через воздействие на образование биопленок, что является одним из ключевых факторов антибиотикорезистентности. При этом, как было отмечено ранее, наиболее выраженный эффект продемонстрирован в отношении грамположительных форм, что определяет специфичность антибактериального действия данного пептида. Полученные результаты расширяют понимание механизмов анти-микробной активности секретируемых мицелиальными грибами метаболитов и их селективное



**Рис. 2.** Анализ образования биопленки (OP<sub>595</sub>) штаммами *E. faecalis* при различных концентрациях эмерициллипсина А (мкг/мл): а – *E. faecalis* 6; б – *E. faecalis* 7; в – *E. faecalis* 8; г – *E. faecalis* 9. \*\* Концентрации пептида, при которых наблюдались статистически значимые различия между контрольными биопленками и биопленками, образующимися в присутствии пептида ( $p < 0.005$ ).

воздействие на сопутствующую микробиоту при конкурентных взаимоотношениях в сообществах.

Авторы выражают благодарность сотрудникам кафедры микробиологии и заразных болезней Оренбургского государственного аграрного университета и лично Сычевой М.В. за помощь в исследовании антимикробных свойств эмерициллипсина А.

Работа по выделению и накоплению эмерициллипсина А для биологических испытаний выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18-74-10073), работа

по культивированию продуцента при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90088.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yazici A., Ortucu S., Taskin M., Marinelli L. // Current Topics in Medicinal Chemistry. 2018. V. 18. № 24. P. 1–6.
2. Do T., Devine D., Marsh P.D. // Clin. Cosmet. Investig. Dent. 2013. V. 5. № 6 P. 11–19.

3. Baranova A.A., Georgieva M.L., Bilanenko E.N., Andreev Y.A., Rogozhin E.A., Sadykova V.S. // Appl. Biochem. Microbiol. 2017. V. 53. № 6. P. 703–710.
4. Athina A., Molchanova N., Jenssen H. // Biomolecules. 2018. V. 8. № 2. № 27. P. 1–29.
5. Costerton W., Veeh R., Shirliff M., Pasmore M., Post C., Ehrlich G. // J. Clin. Investig. 2003. V. 112. № 10. P. 1466–1477.
6. Fan L., Sun J., Zhou M., Zhou J., Lao X., Zheng H., Xu H. // Sci. Rep. 2016. V. 6. № 24482.
7. Jacobsen A.S., Jenssen H. // Future Med. Chem. 2012. № 4. P. 1587–1599.
8. Overhage J., Campisano A., Bains M., Torfs E.C.W., Rehm B.H.A., Hancock R.E.W. // Infect. Immun. 2008. V. 76. № 9. P. 4176–4182.
9. Журлов О.С. // Успехи современного естествознания. 2015. № 9 Т. 1. С. 107–109.
10. Mansour S.C., de la Fuente-Núñez C., Hancock R.E.W. // J. Pept. Sci. 2015. V. 21. P. 323–329.
11. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Debets A.J.M., Bilanenko E.N. // IMA Fungus. 2013. V. 4. № 2. P. 213–228.
12. Rogozhin E.A., Sadykova V.S., Baranova A.A., Vasilchenko A.S., Lushpa V.A., Mineev K.S., Georgieva M.L., Kul'ko A.B., Krashennnikov M.E., Lyundup A.V., Vasilchenko A.V., Andreev Y.A. // Molecules. 2018. V. 23. № 11. № 2785.
13. Rogozhin E., Sadykova V.A. // Proceedings. 2019. V. 22. E. 4. P. 1–12.
14. Baranova A.A., Rogozhin E.A., Georgieva M.L., Bilanenko E.N., Kul'ko A.B., Yakushev A.V., Alferova V.A., Sadykova V.S. // Applied Biochemistry and Microbiology. 2019. V. 55. № 2. P. 145–151.
15. Садыкова В.С., Рогожин Е.А., Баранова А.А., Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н., Васильченко А.С. Патент РФ № 2704421, 2019.
16. Plakunov V.K., Martyanov S.V., Teteneva N.A., Zhurina M.V. // Microbiology. 2016. V. 85. № 4. P. 509–513.
17. MBEC™ Assay For High-Throughput Antimicrobial Susceptibility Testing of Biofilms Procedural manual. Version 1.1 For High-Throughput Antimicrobial Susceptibility Testing of Biofilms. Date of Issue: 17 November 2015. ©Innovotech, Inc.
18. O'Toole G.A. // J. Visualized Experiments. 2011. V. 47. P. e2437. <https://doi.org/10.3791/2437>
19. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета *Statistica*. ГЭОТАР-Медиа, 2012. 384 с.
20. Pflanzgraff A., Brandenburg K., Weindl G. // Front Pharmacol. 2018. V. 28. № 9. P. 281. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00281>
21. Khan F., Nguyen P.D.T., Oloketuyi S.F., Kim Y.M. // Curr. Pharm. Biotechnol. 2019. V. 30 P. 345–360. <https://doi.org/10.2174/1389201020666191112155905>

## Antimicrobial Activity of Lipopeptide – Emericellipsin A, Isolated from *Emericellopsis alkalina*, Against Biofilm-Forming Pathogenic Clinical Bacteria

V. S. Sadykova<sup>a, b, \*</sup>, I. A. Gavryushina<sup>a, b</sup>, A. E. Kuvarina<sup>a, b</sup>, N. N. Markelova<sup>c, d</sup>,  
N. G. Sedykh<sup>d</sup>, M. L. Georgieva<sup>a, e</sup>, A. C. Barashkova<sup>b</sup>, and E. A. Rogozhin<sup>a, b, f</sup>

<sup>a</sup>Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021 Russia

<sup>b</sup>Institute of Bioorganic Chemistry named after Academicians M.M. Shemyakina and Yu.A. Ovchinnikova, Moscow, 117997 Russia

<sup>c</sup>FSBI “Russian Scientific Center of X-ray Radiology” of the Ministry of Health of Russia, Moscow, 117997 Russia

<sup>d</sup>FBIN Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, 111123 Russia

<sup>e</sup>Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

<sup>f</sup>Tyumen State University, Tyumen, 625003 Russia

\*e-mail: sadykova\_09@mail.ru

The antimicrobial activity of the new nonribosomal peptide emericellipsin A against biofilm-forming pathogenic gram-positive and gram-negative clinical bacteria was studied. For the first time, the effect of peptides from the group of peptaibols on the ability to inhibit pathogenic forms of bacteria through the effect on biofilm formation is shown. The most pronounced effect was demonstrated in relation to gram-positive bacteria.

**Keywords:** biofilm-forming bacteria, antimicrobial peptides, emericellipsin A, alkalophilic fungi, *Emericellopsis alkalina*, inhibition of formation biofilm