

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МУЗЕЙНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ К СИНТЕТИЧЕСКОМУ ПЕПТИДУ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ – ZP2

Зурочка А.В.^{1,2}, Добрынина М.А.¹, Зурочка В.А.^{1,2}, Гриценко В.А.³

¹ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

² ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия

³ ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), г. Оренбург, Россия

Резюме. Цель – изучить чувствительность энтеробактерий разной видовой принадлежности к бактерицидному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 после его длительного хранения.

Опыты *in vitro* проведены на музейных тест-штаммах *Escherichia coli* K12 (ГИСК 240367) и *E. coli* (АТСС 25922), а также 104 клинических изолятах *E. coli* (n = 22) и *Klebsiella pneumoniae* (n = 82), выделенных от больных с хирургической патологией. Бактерицидное действие пептида ZP2 (конечная концентрация 10 мкг/мл) на микроорганизмы оценивали по разнице оптической плотности (OD) опытной и контрольной бульонных культур после 20-минутного контакта взвесей бактерий (5×10^8 КОЕ/мл) с пептидом ZP2 (в контроле – с дистиллированной водой), добавления мясопептонного бульона и инкубации при 37 °С в течение 4 часов. Действие пептида ZP2 выражали Индексом бактерицидной активности (ИБА, %).

Экспериментально установлено, что музейные тест-штаммы *E. coli* и большинство изученных клинических штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* (95,5 и 97,6% соответственно) проявляли чувствительность к бактерицидному действию синтетического пептида ZP2 (в конечной концентрации 10 мкг/мл) со средними значениями ИБА $77,6 \pm 3,5$ и $82,8 \pm 1,6\%$ и относительно широкими диапазонами варьирования этого признака 45,8 ... 98,9 и 42,1 ... 99,8% соответственно.

Синтетический пептид ZP2 после 5-летнего хранения при 8 °С оказывал бактерицидное действие на антибиотикорезистентные штаммы энтеробактерий. Полученные данные могут быть использованы для разработки на основе пептида ZP2 лекарственных препаратов, направленных на борьбу с гнойно-воспалительными процессами, вызванными антибиотикорезистентными штаммами *E. coli* и *K. pneumoniae*.

Ключевые слова: синтетический пептид ГМ-КСФ – ZP2, бактерицидная активность, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

Адрес для переписки:

Зурочка Александр Владимирович
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (919) 307-75-98.
E-mail: av_zurochka@mail.ru

Address for correspondence:

Zurochka Aleksandr V.
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian
Academy of Sciences,
620049, Russian Federation, Yekaterinburg,
Pervomayskaya str., 106.
Phone: 7 (919) 307-75-98.
E-mail: av_zurochka@mail.ru

Образец цитирования:

А.В. Зурочка, М.А. Добрынина, В.А. Зурочка, В.А. Гриценко «Чувствительность музейных и клинических штаммов энтеробактерий к синтетическому пептиду активного центра ГМ-КСФ – ZP2» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 403-410.
doi: 10.46235/1028-7221-503-SOA

© Зурочка А.В. и соавт., 2020

For citation:

A.V. Zurochka, M.A. Dobrynina, A.V. Zurochka, V.A. Gritsenko "Sensitivity of archival and clinical enterobacteria strains to synthetic GM-CSF active center ZP2 peptide", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 403-410.
doi: 10.46235/1028-7221-503-SOA

DOI: 10.46235/1028-7221-503-SOA

SENSITIVITY OF ARCHIVAL AND CLINICAL ENTEROBACTERIA STRAINS TO SYNTHETIC GM-CSF ACTIVE CENTER ZP2 PEPTIDE

Zurochka A.V.^{a,b}, Dobrynina M.A.^a, Zurochka A.V.^{a,b}, Gritsenko V.A.^c

^a Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

^b South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

^c Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS), Orenburg, Russian Federation

Abstract. Objective: to study sensitivity of various enterobacterial species to the bactericidal action of the ZP2 synthetic GM-CSF active center peptide after long-term storage.

In vitro experiments were carried out with archival test strains *Escherichia coli* K12 (GISK 240367) and *E. coli* (ATCC 25922), as well as 104 clinical isolates of *E. coli* (n = 22) and *Klebsiella pneumoniae* (n = 82) obtained from patients with surgical pathology. The bactericidal effect of the ZP2 peptide (final concentration 10 µg/ml) on microorganisms was assessed by measuring optical density (OD) difference between experimental and control broth cultures after 20 min exposure of bacterial suspensions (5×10^8 CFU/ml) with the ZP2 peptide (in control – with distilled water), added with meat-peptone broth and incubated at 37 °C for 4 hours. The ZP2 peptide effect was presented as Bactericidal Activity Index (BAI, %).

It was experimentally found that the archival *E. coli* test strains as well as most of examined clinical strains of *E. coli* and *K. pneumoniae* (95.5 and 97.6%, respectively) showed sensitivity to the bactericidal effect of the synthetic ZP2 peptide (at a final concentration of 10 µg/ml) with BAI averaging 77.6 ± 3.5 and $82.8 \pm 1.6\%$ and its relatively wide variation range 45.8 ... 98.9 and 42.1 ... 99.8%, respectively.

The 5-year storage of synthetic ZP2 peptide at 8 °C exerted bactericidal effect on antibiotic-resistant enterobacterial strains. The data obtained can be used to develop ZP2 peptide-based drugs aimed at combating pyo-inflammatory processes caused by antibiotic-resistant *E. coli* and *K. pneumoniae* strains.

Keywords: synthetic GM-CSF – ZP2 peptide, bactericidal activity, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФ УрО РАН, № гос. регистрации АААА-А18-118020690020-1, и теме из Плана НИР ОФИЦ УрО РАН, № гос. регистрации 116021510075.

Введение

Известно, что энтеробактерии, в частности эшерихии и клебсиеллы, являются причиной многих инфекционно-воспалительных заболеваний и нозокомиальных инфекционных осложнений у больных с хирургической патологией, плохо поддающихся лечению [3, 12, 22]. В то же время полирезистентность этих микроорганизмов к применяемым на практике антибиотикам затрудняет подбор адекватной этиотропной терапии. Это связано как с естественной, так и приобретенной резистентностью к антибиотикам, которая не только затрудняет выбор этиотропных препаратов для эмпирической (стартовой) антибактериальной терапии указанных

гноино-воспалительных процессов, но и делает ее мало эффективной [2, 15, 18, 21]. *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* включены в опубликованный 27.02.2017 г. Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) «Лист «приоритетных возбудителей инфекций, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека» относит эти микроорганизмы в качестве «критических» патогенов, которые чаще всего проявляют полирезистентность к антибиотикам (даже к резервным карбапенемам) и против которых требуется срочная разработка новых действенных антимикробных препаратов» [25].

К одним из новых, но привлекающих все более пристальное внимание препаратов относятся синтетические пептиды, полученные из активных молекул пептидной природы человека, обладающие выраженной антибактериальной активностью, в том числе против антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [19, 20, 23, 24]. К таким препаратам относится и синтетический

пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2, так как он, помимо иммуностимулирующих и репарационных эффектов, обладает антимикробным действием, в том числе на различные музейные и клинические штаммы различных видов стафилококков и энтеробактерий. Было показано, что данный пептид снижает рост, размножение и биопленкообразование этих бактерий. На его основе было создано новое косметическое средство «Ацеграм», выпускаемое в виде спрея и геля [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Очень важным было выявить как влияет этот пептид на энтеробактерии, особенно полирезистентные к практически всем видам антибиотиков. Именно к таким видам исследований относится изучение бактерицидной активности синтетического пептида ZP2 в отношении клинических штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*, которая ранее не проводилась.

Кроме того, для создания лекарственных препаратов очень важным является выяснение вопроса о сохранении свойств действующих веществ при разных условиях и сроках хранения.

Цель исследования – изучить чувствительность энтеробактерий разной видовой принадлежности к бактерицидному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 после его длительного хранения.

Материалы и методы

Опыты *in vitro* проведены на музейных тест-штаммах *Escherichia coli* K12 (ГИСК 240367) и *E. coli* (ATCC 25922), а также 104 клинических изолятах *E. coli* (n = 22) и *Klebsiella pneumoniae* (n = 82), выделенных из гнойных ран у больных с различной хирургической патологией и проявляющих выраженную резистентность ко многим антибиотикам, используемым в клинической практике. Выделение чистых культур бактерий осуществляли общепринятыми методами, а их видовую идентификацию проводили с использованием официальных биохимических наборов компании ErsaLachemas.r.o. (Чехия) и на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (Biomerieux, Франция) [14, 16]. Чувствительность энтеробактерий к бактерицидному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (пептид ZP2) определяли по модифицированной методике [1] в следующем порядке: на изотоническом растворе NaCl готовятся взвеси суточных агаровых культур исследуемых бактерий (5×10^8 КОЕ/мл); по 25 мкл взвесей вносятся в ячейки пластикового 96-луночного стерильного планшета; в опыте – к взвесям добавляется по 25 мкл раствора пептида ZP2 (концентрация 20 мкг/мл; то есть конечная/действующая кон-

центрация составляла 10 мкг/мл), в контроле – вместо раствора пептида ZP2 вносится 25 мкл дистиллированной воды; смеси инкубируются в течение 20 мин при 37 °С, а затем во все ячейки добавляется 200 мкл мясopептонного бульона; планшета инкубируется в течение 4 часов при 37 °С, после чего с помощью микропланшетного фотометра Multiscan Accent (Thermo Electron, Финляндия) на длине волны $\lambda = 492$ нм измеряется оптическая плотность (OD) бактериальных культур в ячейках. Каждый вариант опыта и контроля делался в трех повторностях с вычислением средних значений OD. В экспериментах использовался пептид ГМ-КСФ – ZP2, предварительно разведенный в дистиллированной воде (концентрация 20 мкг/мл), расфасованный в ампулы и хранившийся в течение 5 лет в холодильнике при 8 °С.

Для определения действия на исследуемые бактерии пептида ZP2 высчитывали Индекс бактерицидной активности (ИБА, %) по формуле:

$$\text{ИБА} = (\text{OD}_k - \text{OD}_o) / \text{OD}_k \times 100\%,$$

где OD_k и OD_o – оптические плотности контрольной и опытной культур соответственно. Чувствительными считались штаммы при ИБА > 10%.

Если оптическая плотность опытной культуры превышала оптическую плотность контрольной культуры ($\text{OD}_o > \text{OD}_k$), то рассчитывался Индекс стимуляции роста (ИСР, %) по формуле:

$$\text{ИСР} = \text{OD}_o / \text{OD}_k \times 100\%,$$

где OD_k и OD_o – оптические плотности контрольной и опытной культур соответственно. Стимуляция роста учитывалась при ИСР > 10%.

Если значения ИБА и ИСР не превышали 10%, то штаммы бактерий относили к группе устойчивых культур, но индифферентно реагирующих на пептид ZP2.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. Вычисляли среднюю арифметическую и ее ошибку ($M \pm m$) с применением компьютерной программы Statistica v. 12.5 (StatSoft, США); межгрупповые отличия считали достоверными при $p < 0,05$ [13, 17].

Результаты и обсуждение

Полученные экспериментальные данные свидетельствовали, что как музейные тест-штаммы *E. coli*, так и подавляющее большинство (95,5–97,6%) изученных клинических изолятов энтеробактерий разной видовой принадлежности (эшерихии и клебсиеллы) проявляли чувствительность к бактерицидному действию синтетического пептида ГМ-КСФ – ZP2 (в конечной концентрации 10 мкг/мл), несмотря на то, что его раствор хранился в течение 5 лет при 8 °С (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МУЗЕЙНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ РАЗНОЙ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ К БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА ZP2 (КОНЦЕНТРАЦИЯ – 10 мкг/мл)

TABLE 1. SENSITIVITY INDICES OF MUSEUM AND CLINICAL STRAINS OF ENTEROBACTERIA OF DIFFERENT SPECIES TO THE BACTERICIDAL ACTIVITY OF SYNTHETIC PEPTIDE ZP2 (CONCENTRATION – 10 µg/ml)

Изученные штаммы бактерий Studied strains bacteria	Штаммы, чувствительные к пептиду ZP2 Strains sensitive to the ZP2 peptide			Штаммы, резистентные к пептиду ZP2 Strains resistant to the ZP2 peptide		
	Доля штаммов, чувствительных к пептиду ZP2 (%) Proportion of strains sensitive to the ZP2 peptide (%)	Диапазон ИБА (min ... max, %) IBA range (min ... max, %)	Среднее значение ИБА (%) Average IBA (%)	Доля штаммов, индифферентных к пептиду ZP2 (%) Share strains indifferent to the ZP2 peptide (%)	Доля штаммов со стимуляцией роста (%) Proportion of strains with stimulation growth (%)	Среднее значение ИСР (%) Average WRI (%)
Тест-штамм <i>E. coli</i> K12 Test strain <i>E. coli</i> K12		64,9 ... 85,4	77,3±4,6			
Тест-штамм <i>E. coli</i> Test strain <i>E. coli</i> (ATCC 25922)		63,4 ... 69,7	65,7±2,0			
Клинические штаммы <i>E. coli</i> Clinical strains <i>E. coli</i> (n = 22)	95,5±4,5	45,8 ... 98,9	77,6±3,5	–	4,5±4,5	55,1±2,9
Клинические штаммы <i>K. pneumoniae</i> Clinical strains <i>K. pneumoniae</i> (n = 82)	97,6±1,7	42,1 ... 99,8	82,8±1,6	1,2±1,2	1,2±1,2	47,8±2,3

При этом значения Индекса бактерицидной активности (ИБА, %) пептида ZP2 в отношении клинических штаммов *E. coli* (n = 22) и *K. pneumoniae* (n = 82) варьировали в достаточно широких диапазонах (45,8 ... 98,9 и 42,1 ... 99,8% соответственно), а средние значения этого показателя составили 77,6±3,5 и 82,8±1,6% соответственно, то есть по чувствительности к данному пептиду клинические изоляты эшерихий достоверно не отличались от клебсиелл (p > 0,05).

Следует отметить, что чувствительность к бактерицидной активности пептида ZP2 музейных тест-штаммов *E. coli* K12 (ГИСК 240367) и *E. coli* (ATCC 25922) была сопоставима с таковой клинических изолятов эшерихий; значения ИБА

для них равнялись 77,3±4,6 и 65,7±2,0% соответственно.

Кроме того, необходимо подчеркнуть, что среди изученных клинических изолятов энтеробактерий крайне редко (2,4-4,5%) встречались штаммы, проявляющие устойчивость к бактерицидному действию пептида ZP2. При этом в анализируемой выборке штаммов *K. pneumoniae* (n = 82) выявлены всего 2 культуры, резистентные к данному пептиду, причем один изолят «индифферентно» реагировал на него, а у другого штамма после контакта с пептидом ZP2 наблюдалась стимуляция роста на уровне 47,8±2,3% от контроля; в группе клинических изолятов эшерихий (n = 22) был обнаружен лишь один устойчивый к

пептиду ZP2 штамм, рост которого на $55,1 \pm 2,9\%$ усиливался после контакта с ним.

Заключение

Антибиотикорезистентность возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний, особенно этиологических агентов нозокомиальных инфекций, и поиск путей ее преодоления остаются актуальными проблемами современной медицины, в том числе гнойной хирургии. Бесконтрольное и не обоснованное применение антибиотиков при лечении/самолечении инфекционных и гнойно-воспалительных заболеваний ведет к формированию штаммов и клональных линий бактерий, устойчивых к большинству антибиотиков, применяемых в клинике. При этом наблюдается изменение структуры патогенов, вызывающих септические осложнения, среди которых резко (особенно в последние десятилетия) увеличивается доля возбудителей с природной и/или приобретенной полирезистентностью практически ко всем антибиотикам, используемым в клинической практике. Тревожная ситуация складывается при терапии гнойно-воспалительных бактериальных осложнений вирусных инфекций, где основными этиологическими факторами выступают неферментирующие грамотрицательные бактерии и энтеробактерии видов *E. coli* и *K. pneumoniae*, которые характеризуются высокой резистентностью ко многим антимикробным препаратам с разными механизмами действия. Именно по этой причине интересны результаты, полученные в настоящей экспериментальной работе по оценке бактери-

цидного действия синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении клинических штаммов энтеробактерий.

Как следует из представленных данных, в условиях *in vitro* синтетический пептид ZP2 (в относительной низкой концентрации 10 мкг/мл) проявлял выраженное бактерицидное действие на музейные и клинические штаммы *E. coli* и *K. pneumoniae*. Это указывало на то, что данный пептид может не только ингибировать рост грамотрицательных бактерий [4-6], но и оказывать на них бактерицидное действие.

Важно отметить, что этим эффектом обладал пептид ZP2 после 5-летнего хранения при температуре 8 °С в растворенном состоянии, а его антибактериальная активность в отношении этих микроорганизмов была сопоставима с таковой при тестировании синтезированных субстанций со сроком хранения не более 1-2 месяцев [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Учитывая, что синтетический пептид ZP2 (как основное действующее вещество) входит в состав косметических средств «Ацеграм» (спрей/гель), можно допустить, что срок их хранения (без потери препаратами антимикробных свойств) может достигать не менее 5 лет.

Накопленные к настоящему времени экспериментальные данные по антибактериальному действию синтетического пептида ZP2 [4, 5, 6, 7, 8] уже сейчас позволяют рекомендовать косметическое средство «Ацеграм» для местного лечения гнойных осложнений при раневых дефектах, вызванных наиболее распространенными патогенами (стафилококки, энтеробактерии), а также для профилактики послеоперационных раневых инфекций в хирургии и гинекологии.

Список литературы / References

1. Бухарин О.В., Брудастов Ю.А., Гриценко В.А., Дерябин Д.Г. Роль способности бактерий к инактивации факторов естественной противоинойфекционной резистентности в их устойчивости к бактерицидному действию крови (сыворотки крови) // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1996. № 2. С. 160-162. [Bukharin O.V., Brudastov Yu.A., Gritsenko V.A., Deryabin D.G. How the ability of bacteria to inactivate natural antiinfectious resistance factors affects their resistance to the bactericidal action of the blood (serum). *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1996, no. 2, pp. 160-162. (In Russ.)]
2. Горбич Ю.Л., Карпов И.А. Значение адекватной эмпирической терапии при нозокомиальных инфекциях, вызванных *Acinetobacter baumannii* // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2012. Т. 14, № 1. С. 67-73. [Gorbich Yu.L., Karpov I.A. The value of adequate empiric therapy for nosocomial infections caused by *Acinetobacter baumannii*. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2012. Vol. 14, no. 1, pp. 67-73. (In Russ.)]
3. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2009. № 4. С. 66-71. [Gritsenko V.A., Ivanov Yu.B. The role of persistent properties in the pathogenesis of endogenous infections. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2009, no. 4, pp. 66-71. (In Russ.)]
4. Добрынина М.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Сравнительный анализ влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2015. № 2. С. 1-10 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>. [Dobrynina M.A., Zurochka V.A.,

Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Comparative analysis of the effect of a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – ZP2 on the growth of museum cultures of bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Escherichia* *in vitro*. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2015, no. 2, pp. 1-10. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>.

5. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Гриценко В.А. Оценка влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост и биопленкообразование клинических изолятов энтеробактерий *in vitro* // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2018. № 4. С. 1-17. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko V.A. Assessment of the effect of a 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*. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2018, no. 4, pp. 1-17. (In Russ.)]

6. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Мругова Т.М., Гриценко В.А. Антибактериальная активность косметического средства «Ацеграм» в отношении грамотрицательных бактерий // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2017. № 4. С. 1-13. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Mrugova T.M., Gritsenko V.A. Antibacterial activity of the cosmetic product “Acegram” against gram-negative bacteria. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2017, no. 4, pp. 1-13. (In Russ.)]

7. 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. С. 30-35. [Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. Effect of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF – ZP2 on the kinetics of the development of populations of gram-positive cocci and enterobacteria in culture. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 2, pp. 30-35. (In Russ.)]

8. 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). С. 82-85. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P. Sensitivity analysis of clinical staphylococcal isolates to a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 3 (1), pp. 82-85. (In Russ.)]

9. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами – АЦЕГРАМ-ГЕЛЬ и АЦЕГРАМ-СПРЕЙ // Российский иммунологический журнал, 2016. Т. 10 (19), № 3. С. 269-272. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gritsenko V.A. Synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as a basis for the creation of new generation cosmetics with combined effects – ACEGRAM-GEL and ACEGRAM-SPRAY. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, Vol. 10 (19), no. 3, pp. 269-272. (In Russ.)]

10. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Черешнев В.А. Феномен наличия уникальной комбинации иммунобиологических свойств у синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2016. № 2. 30 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf> [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Chereshnev V.A. The phenomenon of a unique combination of immunobiological properties in a synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2016, no. 2. 30 p. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>.

11. Зурочка А.В., Суховой Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г. Способ повышения бактерицидной активности // Патент РФ на изобретение № 2448725. Опубликовано 27.04.2012. Бюл. № 12. [Zurochka A.V., Sukhovey Yu.G., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Petrov S.A., Unger I.G., Kostolomova E.G. Method for increasing bactericidal activity. RF patent for invention No. 2448725. Published on April 27, 2012. Bul. No. 12].

12. Иванов Д.В., Крапивина И.В., Галева Е.В. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, этиология, антибактериальная терапия и профилактика // Антибиотики и химиотерапия, 2005. Т. 50, № 12. С. 19-28. [Ivanov D.V., Krapiyina I.V., Galeva E.V. Nosocomial infections: epidemiology, pathogenesis, etiology, antibiotic therapy and prevention. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2005, Vol. 50, no. 12, p. 19-28. (In Russ.)]

13. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometrics]. Moscow: Higher school, 1990. 352 p.
14. МР 02.032-08. Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact. Методические рекомендации. М., 2008. [MR 02.032-08. Identification of microorganisms and determination of their sensitivity to antibiotics using the automatic microbiological analyzer VITEK 2 Compact. Guidelines]. Moscow, 2008.
15. Мругова Т.М., Качалова И.В. Особенности таксономической структуры и резистентности к антибиотикам микрофлоры, изолированной от больных в многопрофильном хирургическом стационаре // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2016. № 2. 12 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf> [Mrugova T.M., Kachalova I.V. Features of the taxonomic structure and antibiotic resistance of microflora isolated from patients in a multidisciplinary surgical hospital. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2016, no. 2. 12 p. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf>.
16. Приказ МЗ СССР от 22 апреля 1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». М., 1989. 126 с. [Order of the Ministry of Health of the USSR of April 22, 1985. No. 535 "On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions".] Moscow, 1989. 126 p.
17. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 220 с. Trukhacheva N.V. Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package]. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 220 p.
18. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 567 с. [Schlegel G. General Microbiology]. Moscow: Mir, 1987. 567 p.
19. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, no. 3, pp. 238-250.
20. Finlay B.B., Hancock R.E.W. Can innate immunity be enhanced to treat microbial infections? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, no. 2, pp. 497-504.
21. Leopold S. J., van Leth F., Tarekegn H., Schults C. Antimicrobial drug resistance among clinically relevant bacterial isolates in sub-saharan africa: a systematic review. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2014, Vol. 69., no. 9, pp. 2337-2353.
22. Spellberg B., Guidos R., Gilbert D., Bradley J., Boucher H.W., Scheld W.M., Bartlett J.G., Edwards J. Jr, Infectious Diseases Society of America. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.*, 2008, Vol. 46, pp. 155-164.
23. Vasilchenko A.S., Vasilchenko A.V., Pashkova T.M., Smirnova M.P., Kolodkin N.I., Manukhov I.V., Zavlitsky G.B., Sizova E.A., Kartashova O.L., Simbirtsev A.S., Rogozhin E.A., Duskaev G.K., Sycheva M.V. Antimicrobial activity of the indolicidinderived novel synthetic peptide In-58. *J. Pept. Sci.*, 2017, Vol. 23, pp. 855-863.
24. Walsh C. Where will new antibiotics come from? *Nat. Rev. Microbiol.*, 2003, Vol. 1, no. 1, pp. 65-70.
25. WHO: First ever list of antibiotic-resistant "priority pathogens". GENEVA, 2017. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed>.

Авторы:

Зурочка А.В. — д.м.н., профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), г. Челябинск; ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Добрынина М.А. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Zurochka A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Food and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk; Chief Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Dobrynina M.A., Junior Research Associate, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Зурочка В.А. — д.м.н., профессор кафедры пищевых и биотехнологий, ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), г. Челябинск; старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Гриценко В.А. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), г. Оренбург, Россия

Zurochka V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Food and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk; Senior Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS), Orenburg, Russian Federation

Поступила 29.08.2020
Принята к печати 07.09.2020

Received 29.08.2020
Accepted 07.09.2020