

4
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

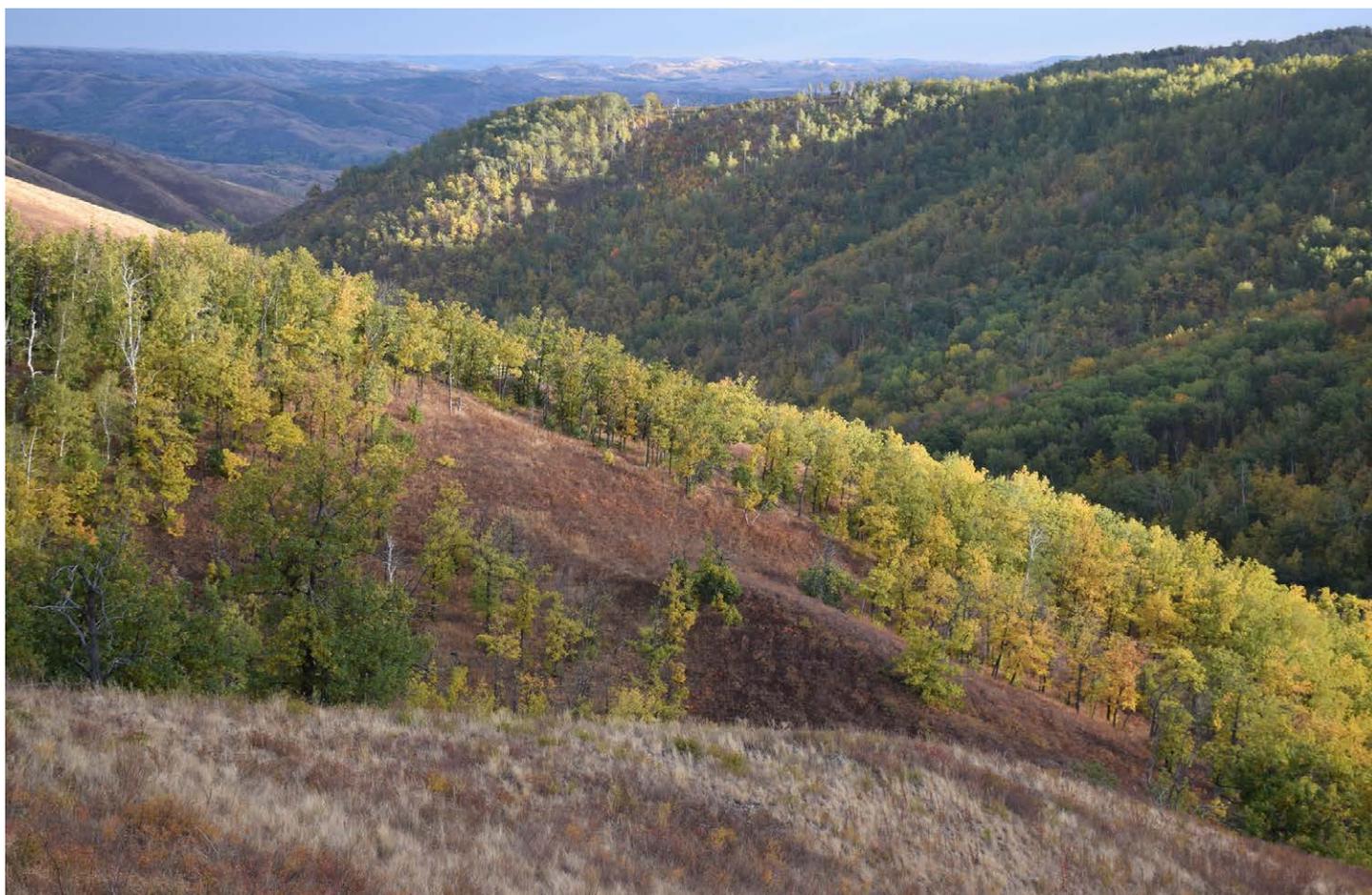
ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>



2017
ГОД ЭКОЛОГИИ
В РОССИИ

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН



2017

УЧРЕДИТЕЛИ

УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РАН
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2017

УДК: 579.861.2-547.96

М.А. Добрынина¹, А.В. Зурочка^{1,2}, Я.В. Тяпаева^{3,4}, Ю.П. Белозерцева³,
Т.М. Мругова⁵, В.А. Гриценко^{4,6}

антибактериальная активность косметического средства «ацеграм» в отношении грамотрицательных бактерий

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

⁵ Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

⁶ Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель. Оценить антибактериальную активность косметического средства «Ацеграм» в отношении грамотрицательных бактерий разной видовой принадлежности.

Материалы и методы. Опыты *in vitro* проведены на 24 клинических штаммах грамотрицательных бактерий видов *Klebsiella pneumoniae* (n=8), *Acinetobacter baumannii* (n=8) и *Pseudomonas aeruginosa* (n=8), выделенных из гнойных ран у больных с синдромом диабетической стопы, из отделяемого влагалища у женщин с миомой матки, из желчи и аспирата нижних дыхательных путей у больных с хирургической патологией. Влияние косметического средства «Ацеграм» (спрей) на репродуктивные показатели грамотрицательных бактерий оценивали по их росту в жидкой питательной среде после инокуляции 25 мкл взвесей микроорганизмов ($5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл) в 125 мкл мясопептонного бульона с добавлением в него 50 мкл «Ацеграма» путем замера оптической плотности (ОД) бактериальных культур на 0, 4 и 24 часах инкубации при 37°C.

Результаты. Дана характеристика особенностей ингибирующего действия косметического средства «Ацеграм» (спрей), созданного на основе синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2, на рост в МПБ клинических штаммов *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* на раннем (0-4 часа) и позднем (4-24 часа) этапах культивирования. Установлено, что чувствительность бактерий к синтетическому пептиду ZP2 убывала в ряду: *A. baumannii* \geq *K. pneumoniae* $>$ *P. aeruginosa*. Выявлена способность клинических изолятов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* «адаптироваться» к действию синтетическому пептиду ZP2 на поздних этапах развития культур (4-25 час), более выраженная *P. aeruginosa*. Отмечена внутривидовая (штаммовая) вариабельность бактерий по чувствительности к антибактериальному действию косметического средства «Ацеграм».

Заключение. Обсуждена возможность использования косметического средства «Ацеграм» в клинической практике.

Ключевые слова: косметическое средство «Ацеграм», антибактериальная активность, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, рост.

M.A. Dobrynina¹, A.V. Zurochka^{1,2}, Y.V. Tyapayeva^{3,4}, Y.P. Belozertseva³,
T.M. Mrugova⁵, V.A. Gritsenko^{4,6}

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF COSMETIC «ACEGRAM» AGAINST GRAM-NEGATIVE BACTERIA

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

⁵ Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

⁶ Orenburg Scientific Centre UrB RAS, Orenburg, Russia

Objective. To evaluate the antibacterial activity of the cosmetic "Acegram" in relation to gram-negative bacteria of different species.

Materials and methods. In vitro experiments were conducted on 24 clinical strains of Gram-negative bacteria of the species *Klebsiella pneumoniae* (n = 8), *Acinetobacter baumannii* (n = 8) and *Pseudomonas aeruginosa* (n = 8) isolated from purulent wounds in patients with diabetic foot syndrome from the vaginal discharge women with uterine myoma, from bile and aspirate of the lower respiratory tract in patients with surgical pathology. The effect of the "Acegram" cosmetic agent on the reproductive indices of gram-negative bacteria was evaluated by their growth in a liquid nutrient medium after inoculation with 25 µl of microorganism suspensions ($5 \cdot 10^8$ CFU / ml) in 125 µl of meat-peptone broth with addition of 50 µl of "Acegram" by measuring the optical density (OD) of bacterial cultures at 0, 4 and 24 hours of incubation at 37°C.

Results. Characteristics of the inhibitory properties of the cosmetic "Acegram" (spray), created on the basis of the synthetic peptide of the active center of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) - ZP2, on the growth of the clinical strains *K. pneumoniae*, *A. baumannii* and *P. aeruginosa* at early (0-4 hours) and late (4-24 hours) stages of cultivation. It was found that the sensitivity of bacteria to the synthetic peptide ZP2 decreased in the series: *A. baumannii* > *K. pneumoniae* > *P. aeruginosa*. The ability of clinical isolates of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* to "adapt" to the action of the synthetic peptide ZP2 in the late stages of development of cultures (4-25 hours), more pronounced *P. aeruginosa*. Intraspecific (strain) variability of bacteria was noted for sensitivity to the antibacterial action of the cosmetic "Acegram".

The conclusion. The possibility of using the cosmetic "Acegram" in clinical practice is discussed.

Keywords: cosmetic "Acegram", antibacterial activity, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, growth.

Введение

Грамотрицательные бактерии разной таксономической принадлежности, в частности энтеробактерии, псевдомонады и ацинетобактеры, относятся к потенциально патогенной микрофлоре и являются частыми возбудителями инфекционно-воспалительной патологии, в том числе эндогенных и нозокомиальных инфекций [1-3]. Причем данные возбудители часто обладают полиантибиотикорезистентностью, что осложняет выбор этиотропных лекарственных средств для эмпирической (стартовой) терапии вызванных ими заболеваний и делает ее мало эффективной [4-6]. Это обстоятельство побудило Все-

мирную Организацию Здравоохранения (ВОЗ) впервые составить и опубликовать 27.02.2017 г. Лист приоритетных возбудителей инфекций, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека, включив в него указанные микроорганизмы, прежде всего *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, в качестве «критических» патогенов, которые чаще всего проявляют множественную устойчивость к антибиотикам (даже к резервным карбапенемам), и против которых требуется срочная разработка новых действенных антибактериальных препаратов [7].

Потенциальными претендентами на роль таких препаратов являются природные, полусинтетические и синтетические пептиды, нередко обладающие антимикробной активностью, в том числе в отношении антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [8-11].

В этом плане определенный интерес вызывает вопрос о чувствительности грамотрицательных бактерий разной таксономической принадлежности к синтетическому пептиду активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2, поскольку в недавнем цикле работ показано, что указанный пептид помимо иммуностропных и репаративного эффектов обладает антибактериальной активностью в отношении эшерихий и грампозитивной кокковой флоры (микро- и стафилококки) [12-15]. Наличие у данного синтетического пептида ZP2 уникальной комбинации иммунобиологических свойств позволило создать на его основе новое косметическое средство «Ацеграм», выпускаемое в виде спрея и геля [16-19]. Однако его влияние на клинические штаммы *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* не тестировалось.

Целью настоящего исследования была оценка антибактериальной активности косметического средства «Ацеграм» в отношении грамотрицательных бактерий разной видовой принадлежности.

Материалы и методы

Опыты *in vitro* проведены на 24 клинических штаммах грамотрицательных бактерий видов *Klebsiella pneumoniae* (n=8), *Acinetobacter baumannii* (n=8) и *Pseudomonas aeruginosa* (n=8), выделенных из гнойных ран у больных с синдромом диабетической стопы, из отделяемого влагалища у женщин с миомой матки, из желчи и аспирата нижних дыхательных путей у больных с хирургической патологией. Выделение чистых культур осуществляли общепринятыми методами, а видовую идентификацию клинических изолятов микроорганизмов

проводили с использованием официальных биохимических наборов компании Erba Lachema s.r.o. (Чехия), а также на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (Biomérieux, Франция) [20, 21].

Влияние косметического средства «Ацеграм» (спрей) на репродуктивные показатели грамотрицательных бактерий оценивали по их росту в жидкой питательной среде в ячейках 96-луночного полистиролового планшета после инокуляции 25 мкл взвесей микроорганизмов ($5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл), приготовленных из суточных агаровых культур, в 125 мкл мясopептонного бульона (МПБ) с добавлением в него 50 мкл «Ацеграма» путем замера на 0 (исходное значение), 4 и 24 часах инкубации при 37°C оптической плотности (ОД) бактериальных культур с помощью ридера спектрофотопетра Multiscan Accent (Thermo LabSystems, Финляндия) при длине волны (λ) 492 нм, то есть в культуральной среде конечная концентрация синтетического пептида ZP2 составляла 5 мкг/мл. Контролем служили культуры бактерий, где вместо «Ацеграма» в МПБ добавляли 50 мкл стерильной дистиллированной воды.

Для определения степени влияния «Ацеграма» на рост бактерий рассчитывали Индекс ингибирования (ИИ, %) развития бактериальных популяций по формуле [22]:

$$\text{ИИ} = (\text{ОДк} - \text{ОДo}) / \text{ОДк} * 100\%,$$

где ИИ – Индекс ингибирования (%); ОДк и ОДo – оптическая плотность контрольной и опытной культур соответственно. Индекс ингибирования бактериальных популяций оценивался на 4 и 24 часах. Чувствительными считались штаммы, если ИИ был больше 5%.

Кроме того рассчитывали удельную скорость роста (μ , ч⁻¹) бактерий в МПБ на разных этапах развития бактериальных культур (0-4 и 4-24 часа) по формулам [23]:

$$\mu_{0-4} = (\text{LnOД}_4 - \text{LnOД}_0) / 4 \quad \text{и} \quad \mu_{4-24} = (\text{LnOД}_{24} - \text{LnOД}_4) / 20,$$

где μ_{0-4} и μ_{4-24} – удельные скорости роста (ч⁻¹) бактерий на временных интервалах 0-4 и 4-24 часа соответственно; LnOД₀, LnOД₄ и LnOД₂₄ – натуральные логарифмы оптической плотности (ОД) бульонных культур на 0, 4 и 24 часах инкубации.

Данные были обработаны методами вариационной статистики [24, 25].

Результаты и обсуждение

Полученные экспериментальные данные свидетельствовали, что косметическое средство «Ацеграм», основу которого составляет синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2, в целом оказывало ингибирующее воздействие на рост грамотрицательных микроорганизмов изученных таксонов, однако уровень и характер его антибактериальной активности зависели как от видовой принадлежности бактерий, так и их штаммовых особенностей.

Так, клинические штаммы *K. pneumoniae* существенно медленнее развивались в МПБ при добавлении в жидкую питательную среду косметического средства «Ацеграм» (опыт), чем в контроле, на что указывали не только разный характер динамики ОД опытных и контрольных бульонных культур микроорганизмов (рис. 1А), но и снижение в 2,55 раза удельной скорости роста (μ) бактерий в опыте на начальном этапе (0-4 часа) развития бактериальных популяций – $0,113 \pm 0,023$ против $0,287 \pm 0,021$ ч⁻¹ в контроле (рис. 1Б, табл. 1).

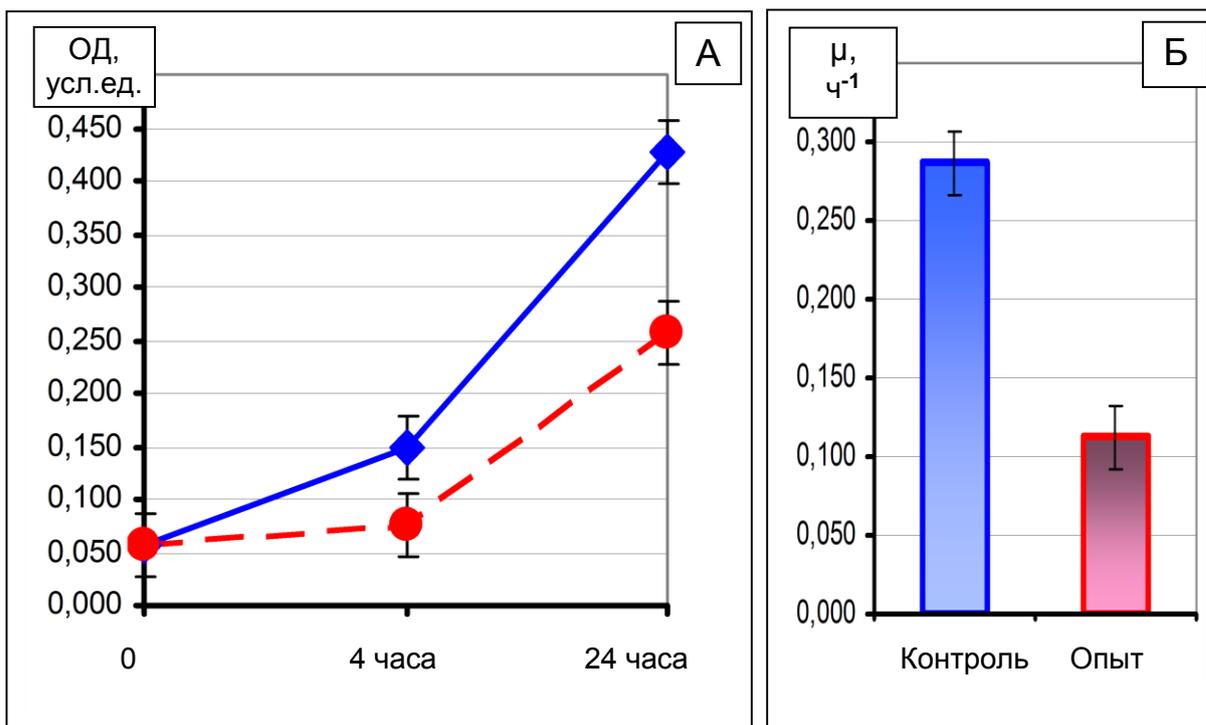


Рис. 1. Влияние «Ацеграма» на динамику ОД (А) и удельную скорость роста – μ_{0-4} (Б) клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae* в МПБ.

Обозначения:

для рис. А: по оси ординат – оптическая плотность (ОД, усл.ед.); по оси абсцисс – время (часы); синяя сплошная линия – контроль; красный пунктир – опыт;
для Б: по оси ординат – удельная скорость роста в течение 4 часов (μ , ч⁻¹); синий столбик – контроль; красный столбик – опыт.

При этом на более позднем этапе развития культур (4-24 часа) удельные скорости роста изученных клинических штаммов *K. pneumoniae* в опыте и контроле практически не отличались – $0,053 \pm 0,003$ и $0,053 \pm 0,012$ ч⁻¹ соответственно (табл. 1), что, очевидно, указывало на способность клебсиелл адаптироваться к ингибирующему действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2.

Таблица 1. Удельная скорость роста штаммов *Klebsiella pneumoniae* в МПБ с учетом наличия в среде «Ацеграма» (на разных этапах)

Вид бактерий (количество штаммов)	Образцы	Удельная скорость роста (μ , ч ⁻¹) бактерий в разные временные интервалы	
		0-4 часа	4-24 часа
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=8)	Контроль (К)	$0,287 \pm 0,021$	$0,053 \pm 0,003$
	Опыт (Оп)	$0,113 \pm 0,023^*$	$0,053 \pm 0,012$
	К/Оп	2,55	1,00

Примечание: * – достоверность отличий значений в опыте и контроле ($p < 0,05$):
К/Оп – отношение средних значений в контроле и опыте.

Однако такая адаптация не обеспечивала им к 24 часам инкубации накопление биомассы (по ОД), сопоставимой по размеру с контролем, о чем свидетельствовали относительно высокие значения Индекса ингибирования как на 4 часах, так и 24 часах культивирования – $49,3 \pm 2,6$ и $36,7 \pm 12,1\%$ соответственно (табл. 2).

Таблица 2. Индексы ингибирования (ИИ, %) роста грамотрицательных бактерий в МПБ «Ацеграмом» (на разных этапах культивирования)

Время культивирования	Индексы ингибирования (ИИ, %) роста бактерий разной таксономической принадлежности*		
	<i>K. pneumoniae</i> (n=8)	<i>A. baumannii</i> (n=8)	<i>P. aeruginosa</i> (n=8)
4 часа	$49,3 \pm 2,6$	$47,6 \pm 4,0$	$18,2 \pm 3,1^{1,2}$
24 часа	$36,7 \pm 12,1$	$77,1 \pm 7,7^1$	$2,2 \pm 4,7^{1,2}$

Примечание: * - достоверные отличия ($p < 0,05$): 1 – в сравнении с *K. pneumoniae*;
2 – в сравнении с *A. baumannii*.

Еще более выраженный ингибирующий эффект косметическое средство «Ацеграм» оказывало на рост в МПБ клинических штаммов *Acinetobacter baumannii*. С одной стороны, на это указывала депрессивная динамика ОД бульонных культур данных микроорганизмов в опыте при сравнении с контролем (рис. 2А); с другой стороны, об этом же свидетельствовало выраженное относительно контроля уменьшение удельной скорости роста (μ) бактерий в опытных культурах как на начальных, так и на поздних этапах развития бактериальных популяций – в 7,85 и 5,29 раза соответственно (рис. 2Б, табл. 3). Конечным итогом антибактериального действия «Ацеграма» в отношении клинических штаммов *A. baumannii* явилось то, что средние значения Индекса ингибирования их роста в МПБ были максимальными (при сравнении с этим показателем для бактерий других изученных видов) и достоверно увеличивались с $47,6 \pm 4,0\%$ на 4 часах, до $77,1 \pm 7,7\%$ на 24 часах (табл. 2).

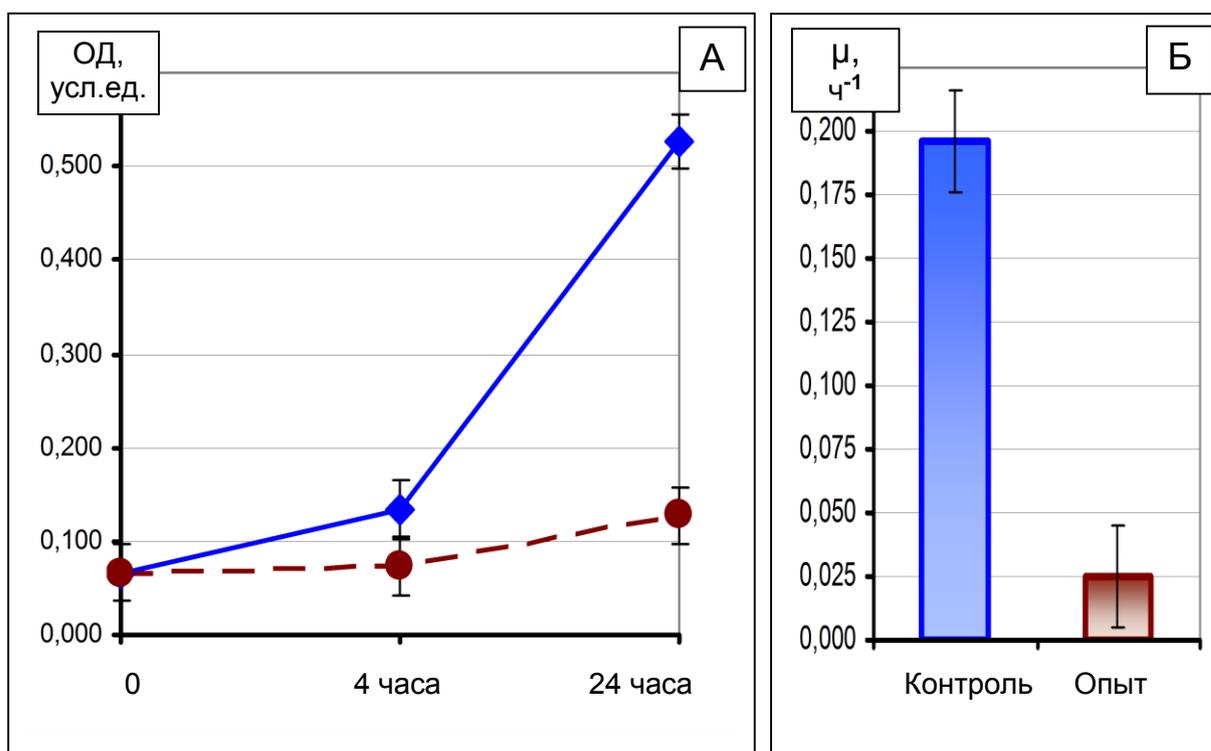


Рис. 2. Влияние «Ацеграма» на динамику ОД (А) и удельную скорость роста – μ_{0-4} (Б) клинических штаммов *Acinetobacter baumannii* в МПБ.

Обозначения:

для рис. А: по оси ординат – оптическая плотность (OD, усл.ед.); по оси абсцисс – время (часы); синяя сплошная линия – контроль; коричневый пунктир – опыт; для Б: по оси ординат – удельная скорость роста в течение 4 часов (μ , $ч^{-1}$); синий столбик – контроль; коричневый столбик – опыт.

Здесь же попутно отметим разницу в характере роста клинических изолятов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* в МПБ (в контроле), которая проявлялась

в том, что клебсиеллы в сравнении с ацинетобактерами более активно росли на начальных этапах (0-4 часа) и медленнее в позднюю стадию (4-24 часа), о чем свидетельствовали соответствующие значения удельной скорости их роста (μ_{0-4} и μ_{4-24}): $0,287 \pm 0,021$ против $0,196 \pm 0,039$ ч⁻¹ (в 1,46 раза) и $0,053 \pm 0,003$ против $0,069 \pm 0,004$ ч⁻¹ (в 1,30 раза).

*Таблица 3. Удельная скорость роста штаммов *Acinetobacter baumannii* в МПБ с учетом наличия в среде «Ацеграма» (на разных этапах)*

Вид бактерий (количество штаммов)	Образцы	Удельная скорость роста (μ , ч ⁻¹) бактерий в разные временные интервалы	
		0-4 часа	4-24 часа
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=8)	Контроль (К)	$0,196 \pm 0,039$	$0,069 \pm 0,004$
	Опыт (Оп)	$0,025 \pm 0,036^*$	$0,013 \pm 0,011^*$
	К/Оп	7,85	5,29

Примечание: * – достоверность отличий значений в опыте и контроле ($p < 0,05$);
К/Оп – отношение средних значений в контроле и опыте.

Клинические штаммы *Pseudomonas aeruginosa* проявляли к антибактериальному действию косметического средства «Ацеграм» большую устойчивость, чем изученные изоляты *K. pneumoniae* и *A. baumannii*.

Как видно из рисунка 3А, увеличение биомассы псевдомонад (ОД) тормозилось лишь на начальных этапах (0-4 часа) развития опытных культур микроорганизмов, что подтверждалось снижением в 1,35 раза ($p < 0,05$) удельной скорости их роста в сравнении с контрольными значениями этого параметра – $0,196 \pm 0,005$ против $0,264 \pm 0,019$ ч⁻¹ (рис. 3Б, табл. 4). Это обеспечивало среднее значение Индекса ингибирования роста *P. aeruginosa* на 4 часах инкубации всего на уровне $18,2 \pm 3,1\%$ (табл. 2), который был в 2,71 и 2,62 раза ниже, чем аналогичный показатель для *K. pneumoniae* и *A. baumannii* соответственно.

Кроме того на более позднем этапе развития культур (4-24 часа) средняя удельная скорость роста (μ_{4-24}) штаммов *P. aeruginosa* в опыте несколько превышала контрольные значения – $0,077 \pm 0,006$ против $0,068 \pm 0,004$ ч⁻¹ соответственно (табл. 4), что нивелировало их отставание в накоплении биомассы, наблюдаемое на начальном этапе при сравнении с контролем, и приводило к снижению среднего значения Индекса ингибирования на 24 часах до $2,2 \pm 4,7\%$ (табл. 2), которое можно было расценивать как способность псевдомонад

«ускользнуть» от антибактериального действия синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2, входящего в состав косметического средства «Ацеграм».

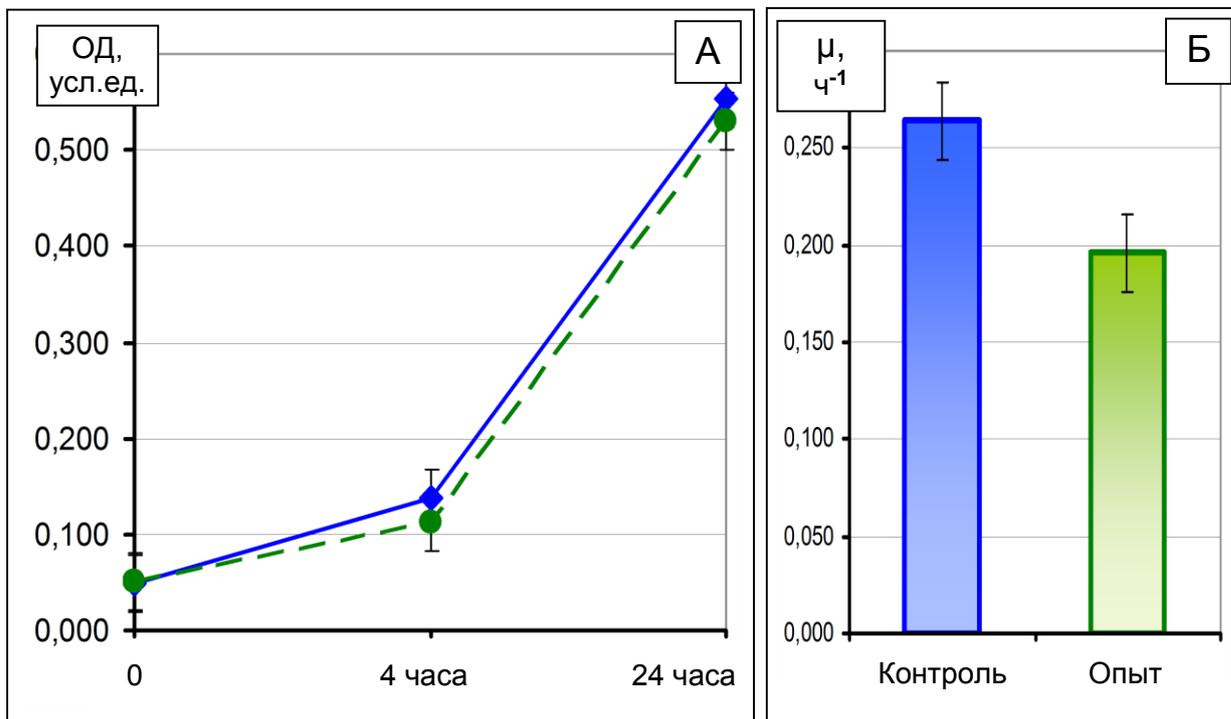


Рис. 3. Влияние «Ацеграма» на динамику ОД (А) и удельную скорость роста – μ_{0-4} (Б) клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в МПБ.

Обозначения:

для рис. А: по оси ординат – оптическая плотность (OD, усл.ед.); по оси абсцисс – время (часы); синяя сплошная линия – контроль; зеленый пунктир – опыт;
для Б: по оси ординат – удельная скорость роста в течение 4 часов (μ , ч⁻¹); синий столбик – контроль; зеленый столбик – опыт.

Таблица 4. Удельная скорость роста штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в МПБ с учетом наличия в среде «Ацеграма» (на разных этапах)

Вид бактерий (количество штаммов)	Образцы	Удельная скорость роста (μ , ч ⁻¹) бактерий в разные временные интервалы	
		0-4 часа	4-24 часа
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=8)	Контроль (К)	0,264±0,019	0,068±0,004
	Опыт (Оп)	0,196±0,005*	0,077±0,006
	К/Оп	1,35	0,89

Примечание: * – достоверность отличий значений в опыте и контроле ($p < 0,05$); К/Оп – отношение средних значений в контроле и опыте.

В этом плане клинические изоляты *P. aeruginosa* вели себя аналогично изученным штаммам *K. pneumoniae*, однако их адаптация к синтетическому пептиду ZP2 была еще более выражена, чем у клебсиелл.

Совокупность полученных данных позволяет ранжировать микроорганизмы изученных видов с учетом показателей их чувствительности к антибактериальному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 (угнетение удельной скорости роста и Индекс ингибирования) в следующий ряд: *A. baumannii* \geq *K. pneumoniae* $>$ *P. aeruginosa*.

Заключение

Проблема антибиотикорезистентности возбудителей инфекционно-воспалительной патологии становится острее год от года. Это связано, с одной стороны, с бесконтрольным не всегда оправданным использованием антимикробных препаратов при лечении (или самолечении) заболеваний, следствием чего является «селекция» устойчивых к ним клональных линий бактерий, с другой стороны, с изменением структуры патогенов, среди которых увеличивается доля возбудителей, обладающих природной и/или приобретенной полирезистентностью к широко используемым в клинике антибиотикам. Особенно тревожная ситуация складывается при терапии эндогенных и нозокомиальных инфекций, где приоритетными этиологическими факторами выступают грамотрицательные микроорганизмы видов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, характеризующиеся высокой устойчивостью ко многим антимикробным препаратам с разными механизмами действия.

Именно с этой точки зрения интересны представленные результаты настоящей экспериментальной работы, в которой дана оценка чувствительности клинических штаммов указанных микроорганизмов к антибактериальному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2, входящего в состав нового косметического средства «Ацеграм» (спрей).

Как следует из полученных данных, косметическое средство «Ацеграм» в условиях *in vitro* оказывало ингибирующее действие на рост клинических штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, однако выраженность и характер такого воздействия существенно зависели от видовой принадлежности изученных микроорганизмов. Наиболее чувствительными к синтетическому пептиду ZP2 оказались клинические изоляты *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, тогда как штаммы *P. aeruginosa* демонстрировали к нему большую

устойчивость.

В то же время было обращено внимание на способность клинических штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* «адаптироваться» к антибактериальному действию синтетического пептида ZP2, поскольку данные микроорганизмы на более поздних этапах развития бульонных культур (4-24 часа) восстанавливали свою удельную скорость роста в жидкой среде, содержащей указанный пептид. Это обстоятельство заставляет задуматься о механизмах такой адаптации, а также продолжить изучение ее последствий и ответить, по крайней мере, на вопросы: насколько увеличивается устойчивость бактерий к синтетическому пептиду ZP2 после контакта с ним и как долго она сохраняется у «адаптированных» к нему микроорганизмов.

Кроме того следует отметить наличие внутривидовой вариабельности чувствительности клинических изолятов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* к синтетическому пептиду ZP2, о чем свидетельствовал относительно широкий диапазон варьирования анализируемых показателей, отражающих влияние данного пептида на рост изученных штаммов бактерий.

Тем не менее, полученные экспериментальные данные уже сейчас позволяют рекомендовать косметическое средство «Ацеграм» (спрей) для местного лечения раневых дефектов, вызванных указанными патогенами (например, гнойных осложнений при синдроме диабетической стопы), а также для профилактики послеоперационных раневых инфекций в хирургии и гинекологии.

(Работа выполнена по теме из Плана НИР ИКВС УрО РАН «Эндогенные бактериальные инфекции: возбудители, факторы риска, биомаркеры, разработка алгоритмов диагностики, лечения и профилактики; № гос. рег. 116021510075, а также по проектам ИИФ УрО РАН № 15-3-4-33 и ИКВС УрО РАН № 15-3-4-34 в рамках Комплексной программы фундаментальных исследований УрО РАН)

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов Д.В., Крапивина И.В., Галева Е.В. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, этиология, антибактериальная терапия и профилактика. Антибиотики и химиотерапия. 2005. 50(12): 19-28.
2. Spellberg B., Guidos R., Gilbert D. et al. The Epidemic of Antibiotic-Resistant Infections: A Call to Action for the Medical Community from the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases. 2008. 46: 155-164.
3. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций. Журн. микробиол. 2009. 4: 66-71.
4. Горбич Ю.Л., Карпов И.А. Значение адекватной эмпирической терапии при нозокомиальных инфекциях, вызванных *Acinetobacter baumannii*. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2012. 14 (1): 67-73.

5. 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. 12с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf>).
6. Leopold S. J., van Leth F., Tarekegn H., and Schults C. Antimicrobial Drug Resistance Among Clinically Relevant Bacterial Isolates in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2014. 69(9): 2337-2353.
7. WHO: First ever list of antibiotic-resistant "priority pathogens". GENEVA, 2017 (URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed>).
8. Walsh C. Where will new antibiotics come from? Nat. Rev. Microbiol. 2003. 1 (1): 65-70 (DOI: 10.1038/nrmicro727).
9. Finlay B.B., Hancock R.E.W. Can innate immunity be enhanced to treat microbial infections? Nat. Rev. Microbiol. 2004. 2: 497-504 (DOI: 10.1038/nrmicro908).
10. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol. 2005. 3: 238-250 (DOI:10.1038/nrmicro1098).
11. Vasilchenko A.S., Vasilchenko A.V., Pashkova T.M., Smirnova M.P., Kolodkin N.I., Manukhov I.V., Zavilgelsky G.B., Sizova E.A., Kartashova O.L., Simbirtsev A.S., Rogozhin E.A., Duskaev G.K., Sycheva M.V. Antimicrobial activity of the indolicidin-derived novel synthetic peptide In-58. J. Pept. Sci. 2017. 23: 855-863 (DOI: 10.1002/psc.3049).
12. Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на рост грамположительных кокков *in vitro*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 1: 1-10 [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
13. 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: 1-10 [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
14. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б. Влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на кинетику развития популяций грамположительных кокков и энтеробактерий в культуре. Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). № 2(2): 30-35.
15. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П. Анализ чувствительности клинических изолятов стафилококков к синтетическому пептиду активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). 3(1): 82-85.
16. 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 иммунологических свойств у синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. 2: 30с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>).
17. 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 лекарств нового поколения с комбинированными эффектами. Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19). 2(1): 433-435.

18. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колоние-стимулирующего 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: 269-272.
19. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Лаврентьева И.Н., Сухобаевская Л.П., Гриценко В.А. Исследование спектра иммунобиологической активности синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колоние-стимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для расширения возможностей создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами. Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20). 3: 377-380.
20. 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
21. МР 02.032-08. Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора ВИТЕК 2 Compact. Методические рекомендации. М., 2008.
22. Бухарин О.В., Гриценко В.А. Влияние *in vitro* препарата лейкоцитарного катионного белка “Интерцид” на *Escherichia coli*. Антибиот. и химиотер. 2000. 45 (1): 16-20.
23. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 567 с.
24. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
25. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013.

Поступила 28.12.2017

(Контактная информация: **Добрынина Мария Александровна** – научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: a_zurochka@mail.ru;

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

LITERATURA

1. Ivanov D.V., Krapivina I.V., Galeva E.V. Nozokomial'nye infekcii: jepidemiologija, patogenez, jetiologija, antibakterial'naja terapija i profilaktika. Antibiotiki i himioterapija. 2005. 50(12): 19-28.
2. Spellberg B., Guidos R., Gilbert D. et al. The Epidemic of Antibiotic-Resistant Infections: A Call to Action for the Medical Community from the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases. 2008. 46: 155-164.
3. Gricenko V.A., Ivanov Ju.B. Rol' persistentnyh svojstv v patogeneze jendogennyh infekcij. Zhurn. mikrobiol. 2009. 4: 66-71.
4. Gorbich Ju.L., Karpov I.A. Znachenie adekvatnoj jempiricheskoj terapii pri nozoko-mial'nyh infekcijah, vyzvannyh Acinetobacter baumannii. Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. 2012. 14 (1): 67-73.
5. Mrugova T.M., Kachalova I.V. Osobennosti taksonomicheskoi struktury i rezistentnosti k antibiotikam mikroflory, izolirovannoj ot bol'nyh v mnogoprofil'nom hirurgicheskom stacionare. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra Uro RAN. 2016. 2. 12s. [Jelekt. resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf>).
6. Leopold S. J., van Leth F., Tarekegn H., and Schults C. Antimicrobial Drug Resistance Among Clinically Relevant Bacterial Isolates in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review.

- The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2014. 69(9): 2337-2353.
7. WHO: First ever list of antibiotic-resistant "priority pathogens". GENEVA, 2017 (URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed>).
 8. Walsh C. Where will new antibiotics come from? Nat. Rev. Microbiol. 2003. 1 (1): 65-70 (DOI: 10.1038/nrmicro727).
 9. Finlay B.B., Hancock R.E.W. Can innate immunity be enhanced to treat microbial infections? Nat. Rev. Microbiol. 2004. 2: 497-504 (DOI: 10.1038/nrmicro908).
 10. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol. 2005. 3: 238-250 (DOI: 10.1038/nrmicro1098).
 11. Vasilchenko A.S., Vasilchenko A.V., Pashkova T.M., Smirnova M.P., Kolodkin N.I., Manukhov I.V., Zavilgelsky G.B., Sizova E.A., Kartashova O.L., Simbirtsev A.S., Rogozhin E.A., Duskaev G.K., Sycheva M.V. Antimicrobial activity of the indolicidin-derived novel synthetic peptide In-58. J. Pept. Sci. 2017. 23: 855-863 (DOI: 10.1002/psc.3049).
 12. Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Gricenko V.A. Osobennosti vlijanija sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF na rost grampolozhitel'nyh kok-kov in vitro. B'ulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 1: 1-10 [Jelekt. resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
 13. Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Gricenko V.A. Sravnitel'nyj analiz vlijanija sinteticheskogo peptida aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora – ZP2 na rost muzejnyh kul'tur bakterij rodov Staphylococcus i Escherichia in vitro. B'ulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 2: 1-10 [Jelekt. resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
 14. Zurochka A.V., Gricenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. Vlijanie sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF – ZP2 na kinetiku razvitija populjacij grampolozhitel'nyh kokkov i jenterobakterij v kul'ture. Rossijskij immunolo-gicheskij zhurnal. 2015. T. 9 (18). № 2(2): 30-35.
 15. Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gricenko V.A., Tjapaeva Ja.V., Belozerceva Ju.P. Analiz chuvstvitel'nosti klinicheskikh izoljatov stafilokokkov k sinteticheskomu peptidu aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF). Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2015. T. 9 (18). 3(1): 82-85.
 16. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Gricenko V.A., Tjapaeva Ja.V., Chereshev V.A. Fenomen nalichija unikal'noj kombinacii immunobiologicheskikh svojstv u sinteticheskogo analoga aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF). B'ulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2016. 2: 30c. [Jelekt. resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>).
 17. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gricenko V.A. Sinteticheskij peptid aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF) kak osnova dlja sozdanija lekarstv novogo pokolenija s kombinirovannymi jeffektami. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2016. T. 10 (19). 2(1): 433-435.
 18. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gricenko V.A. Sinteticheskij peptid aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF) kak osnova dlja sozdanija kosmeticheskikh sredstv novogo pokolenija s kombinirovannymi jeffektami – ACEGRAM-GEL" i ACEGRAM-SPREJ. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2016. T. 10 (19). 3: 269-272.
 19. Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Lavrent'eva I.N., Suhobaevskaja L.P., Gricenko V.A. Issledovanie spektra immunobiologicheskij aktivnosti sinteticheskogo peptida aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF) kak osnova dlja rasshirenija vozmozhnostej

- sozdaniya kosmeticheskikh sredstv novogo pokolenija s kombinirovanny-mi jeffektami. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2017. T. 11 (20). 3: 377-380.
20. Prikaz MZ SSSR ot 22 aprelja 1985 g. № 535 «Ob unifikacii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovanija, primenjaemyh v kliniko-diagnosticheskikh laboratorijah lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenij». M., 1989. 126 s
 21. MR 02.032-08. Identifikacija mikroorganizmov i opredelenie ih chuvstvitel'nosti k antibiotikam s primeneniem avtomaticheskogo mikrobiologicheskogo analizatora VITEK 2 Compact. Metodicheskie rekomendacii. M., 2008.
 22. Buharin O.V., Gricenko V.A. Vlijanie in vitro preparata lejkocitarnogo kationnogo belka "Intercid" na Escherichia coli. Antibiot. i himioter. 2000. 45 (1): 16-20.
 23. Shlegel' G. Obshhaja mikrobiologija. M.: Mir, 1987. 567 s.
 24. Lakin G.F. Biometrija. M.: Vysshaja shkola, 1990. 352 s.
 25. Truhacheva N.V. Matematicheskaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovanijah s primeneniem paketa Statistica. M.: GOJeTAR-Media, 2013.

Образец ссылки на статью:

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. 13 с. [Электр. ресурс] (URL: [http:// elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-4/Articles/VAG-2017-4.pdf](http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-4/Articles/VAG-2017-4.pdf)).