

2
НОМЕР



ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

On-line версия журнала на сайте

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Tetrao urogallus Linnaeus, 1758
Глухарь
Чибилёв А.А.



2020

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© В.А. Гриценко, А.В. Зурочка, 2020

УДК: 579.861.2-547.96

В.А. Гриценко¹, А.В. Зурочка^{2,3}

РЕАКЦИЯ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И *ACINETOBACTER BAUMANNII* НА БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ – ZP2

¹ Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), Оренбург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

³ Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

Цель. Оценить реакцию неферментирующих грамотрицательных бактерий разной видовой принадлежности на бактерицидную активность синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2.

Материалы и методы. Объекты исследования: тест-штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853 и 98 клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa* (n=43) и *Acinetobacter baumannii* (n=55), выделенных от больных с хирургической патологией. Бактерицидное действие пептида ZP2 (концентрация 10 мкг/мл) на микроорганизмы оценивали по разнице оптической плотности (OD) опытной и контрольной бульонных культур после контакта (20 мин) взвешей бактерий (5×10^8 КОЕ/мл) с пептидом ZP2 (в контроле – с дистиллированной водой), добавления мясопептонного бульона и инкубации при 37°C в течение 4 часов.

Результаты. Установлено, что среди изученных клинических штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* большая часть изолятов (97,7 и 98,2 % соответственно) проявляла чувствительность к бактерицидному действию пептида ZP2 (в концентрации – 10 мкг/мл) со средними значениями Индекса бактерицидной активности (ИБА) $84,3 \pm 1,7$ и $74,0 \pm 2,3\%$. Эталонный штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853 проявлял средний уровень чувствительности к пептиду ZP2 (ИБА= $56,4 \pm 2,3\%$).

Заключение. Полученные данные указывают на возможность использования пептида ZP2 в составе разрабатываемых препаратов для лечения гнойно-воспалительных заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными штаммами *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

Ключевые слова: синтетический пептид ГМ-КСФ – ZP2, бактерицидная активность, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.

V.A. Gricenko¹, A.V. Zurochka^{2,3}

PSEUDOMONAS AERUGINOSA AND ACINETOBACTER BAUMANNII REACTION ON THE BACTERICIDAL EFFECT OF THE SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER HM-CSF - ZP2

¹ Orenburg Federal Research Center, UB RAS (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB RAS), Orenburg, Russia.

² Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia

³ South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

Objective. To assess the reaction of non-fermenting gram-negative bacteria of different species to the bactericidal activity of the synthetic peptide of the active center of GM-CSF - ZP2.

Materials and methods. Objects of the study: *Pseudomonas aeruginosa* test strain ATCC 27853 and 98 clinical isolates of *P. aeruginosa* ($n = 43$) and *Acinetobacter baumannii* ($n = 55$) isolated from patients with surgical pathology. The bactericidal effect of ZP2 peptide (concentration 10 $\mu\text{g/ml}$) on microorganisms was assessed by the difference in optical density (OD) of the experimental and control broth cultures after contact (20 min) of bacterial suspensions (5×10^8 CFU / ml) with peptide ZP2 (control - with distilled water), adding meat peptone broth and incubation at 37°C for 4 hours.

Results. It was found that among the studied clinical strains of *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, most of the isolates (97.7 and 98.2%, respectively) exhibited sensitivity to the bactericidal action of the ZP2 peptide (concentration 10 $\mu\text{g/ml}$) with average values of the Bactericidal Activity Index (IBA) 84.3 ± 1.7 and $74.0 \pm 2.3\%$. The reference *P. aeruginosa* strain ATCC 27853 showed an average level of sensitivity to the ZP2 peptide (IBA = $56.4 \pm 2.3\%$).

Conclusion. The data obtained indicate the possibility of using the ZP2 peptide in the composition of the developed drugs for the treatment of pyoinflammatory diseases caused by antibiotic-resistant *P. aeruginosa* and *A. baumannii* strains.

Key words: synthetic peptide GM-CSF - ZP2, bactericidal activity, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.

Введение

Неферментирующие грамотрицательные бактерии, в частности псевдомонады и ацинетобактеры, все чаще становятся возбудителями хирургической патологии и нозокомиальных гнойно-воспалительных осложнений, плохо поддающихся лечению [3, 12, 22]. Причина кроется в том, что они проявляют либо естественную (природную), либо приобретенную резистентность к антибиотикам, которая делает мало эффективной эмпирическую антибактериальную терапию указанных заболеваний [2, 15, 18, 21]. *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* включены в опубликованный ВОЗ Лист «приоритетных возбудителей инфекций, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека» в качестве «критических» патогенов, которые проявляют полирезистентность к антибиотикам (даже к резервным карбапенемам), и против которых требуется срочная разработка новых действенных антимикробных препаратов [25].

Потенциальными кандидатами на роль таких препаратов являются синтетические и полусинтетические природные пептиды, обладающие широким спектром антибактериальной активности, в том числе в отношении антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [19, 20, 23, 24]. К одним из перспективных препаратов пептидной природы относится синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2, так как он, помимо иммуотропных и репаративных эффектов, обладает антибактериальным действием, в том числе на

стафилококки и энтеробактерии, что позволило на его основе создать новое косметическое средство «Ацеграм», выпускаемое в виде спрея и геля [4-11]. Вместе с тем бактерицидная активность синтетического пептида ZP2 в отношении клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* не тестировалась.

Цель исследования – анализ чувствительности музейных и клинических штаммов псевдомонад и ацинетобактеров к бактерицидному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2.

Материалы и методы

Объектами исследования служили музейный тест-штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853 и 98 клинических изолятов неферментирующих грамотрицательных бактерий видов *P. aeruginosa* (n=43) и *A. baumannii* (n=55), выделенных из гнойных ран у больных с различной хирургической патологией. Выделение чистых культур бактерий осуществляли общепринятыми методами, а их видовую идентификацию проводили с использованием официальных биохимических наборов компании ErbaLachemas.r.o. (Чехия) и на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (Biomérieux, Франция) [14, 16]. Бактерицидное действие синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (пептид ZP2) на неферментирующие грамотрицательные бактерии 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 концентрация составляет 10 мкг/мл), в контроле – вместо раствора пептида ZP2 вносится 25 мкл дистиллированной воды; смеси инкубируются в течение 20 мин при 37°C, а затем во все ячейки добавляется 200 мкл мясопептонного бульона; планшета инкубируется в течение 4 часов при 37°C, после чего с помощью микропланшетного фотометра Multiscan Ascent ("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, разведенный в дистиллированной воде (концентрация 20 мкг/мл).

Для определения действия на исследуемые бактерии пептида ZP2 вы-

считывали Индекс бактерицидной активности (ИБА, %) по формуле:

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

где OD_k и OD_o – оптические плотности контрольной и опытной культур соответственно. Чувствительными считались штаммы при $\text{ИБА} > 10\%$, при $\text{ИБА} \leq 10\%$ изоляты бактерий относили к резистентным.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$) с применением компьютерной программы Statistica v.12.5 (StatSoft, USA) [13, 17].

Результаты и обсуждение

Полученные экспериментальные данные свидетельствовали, что раствор синтетического пептида ГМ-КСФ – ZP2 (в конечной концентрации 10 мкг/мл) оказывал на эталонный штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853 бактерицидное действие средней интенсивности, так как ИБА равнялся $56,4 \pm 2,3\%$.

Кроме того, данный пептид оказывал бактерицидное действие на большую часть (97,7-98,2%) клинических изолятов неферментирующих грамотрицательных бактерий изученных таксонов (табл.).

Таблица. Показатели чувствительности клинических штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий к бактерицидной активности синтетического пептида ZP2 (концентрация – 10 мкг/мл)

Изученные штаммы бактерий	Показатели чувствительности штаммов бактерий к пептиду ZP2		
	Доля штаммов, чувствительных к пептиду ZP2 (%)	Диапазон ИБА (min...max, %)	Среднее значение ИБА (%)
Клинические штаммы <i>P. aeruginosa</i> (n=43)	$97,7 \pm 2,3$	24,4...93,4	$74,0 \pm 2,3$
Клинические штаммы <i>A. baumannii</i> (n=55)	$98,2 \pm 1,8$	44,8...98,8	$84,3 \pm 1,7^*$

Примечание: * - достоверные отличия показателей между клиническими штаммами *P. aeruginosa* и *A. baumannii* ($p < 0,05$).

При этом значения Индекса бактерицидной активности (ИБА) пептида ZP2 в отношении клинических штаммов *P. aeruginosa* (n=43) и *A. baumannii* (n=55) варьировали в достаточно широком диапазоне (24,4...93,4 и 44,8...98,8% соответственно), а средние значения этого показателя составили

74,0±2,3 и 84,3±1,7% соответственно, то есть клинические изоляты ацинетобактера были достоверно более чувствительны к данному пептиду, чем культуры синегнойной палочки ($p < 0,05$).

Заключение

Проблема борьбы с антибиотикорезистентностью возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний становится острее с каждым годом. С одной стороны, это связано с бесконтрольным, не всегда обоснованным применением антимикробных препаратов при лечении/самолечении заболеваний, вследствие чего формируется пул устойчивых к ним клональных линий бактерий. С другой стороны, наблюдается изменение структуры патогенов, среди которых увеличивается доля возбудителей, характеризующихся природной и/или приобретенной полирезистентностью к широко используемым в клинической практике антибиотикам. Особенно тревожная ситуация складывается при терапии гнойно-воспалительных заболеваний и бактериальных осложнений вирусных инфекций, где основными этиологическими факторами выступают неферментирующие грамотрицательные бактерии видов *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, 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 бактерицидного действия синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении клинических штаммов указанных микроорганизмов.

Как следует из представленных данных, в условиях *in vitro* синтетический пептид ZP2 (в относительной низкой концентрации 10 мкг/мл) оказывал выраженное бактерицидное действие на музейные и клинические штаммы *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Это указывало на то, что данный пептид может не только ингибировать рост грамотрицательных, в том числе неферментирующих, бактерий [4-6], но и оказывать на них бактерицидное действие. Учитывая, что синтетический пептид ZP2 (как основное действующее вещество) входит в состав косметических средств «Ацеграм» (спрей / гель), и принимая во внимание полученные экспериментальные данные, уже сейчас можно рекомендовать косметическое средство «Ацеграм» (спрей) для местного лечения гнойных осложнений при раневых дефектах, вызванных указанными бактериальными патогенами, а также для профилактики послеоперационных раневых инфекций в хирургии и гинекологии.

(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)

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Брудастов Ю.А., Гриценко В.А., Дерябин Д.Г. Роль способности бактерий к инаktivации факторов естественной противoinфекционной резистентности в их устойчивости к бактерицидному действию крови (сыворотки крови). Бюлл. экспер. биологии и медицины. 1996. №2: 174-176.
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: 67-73.
3. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций. Журн. микробиол. 2009. № 4: 66-71.
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: 1-10 [Электр. ресурс] (URL: <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. 17 с. [Электр. ресурс] (DOI: 10.24411/2304-9081-2018-14011).
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. 13с. [Электр. ресурс] (DOI: 10.24411/2304-9081-2017-00030).
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: 30-35.
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): 82-85.
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: 269-272.
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. 30с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>).
11. Зурочка А.В., Суховей Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г. Способ повышения бактерицидной активности. Патент РФ на изобр.

- речение № 2448725. Опубликовано 27.04.2012. Бюл. №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: 19-28.
 13. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
 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.
 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. 12с. [Электр. ресурс] (URL: <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 клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». М., 1989. 126 с.
 17. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013. 220с.
 18. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 567 с.
 19. Brogden K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol. 2005. № 3: 238-250 (DOI:10.1038/nrmicro1098).
 20. 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).
 21. 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. V.69.№9. P. 2337-2353.
 22. 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. Vol. 46: 155-164.
 23. 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 indolicidinderived novel synthetic peptide In-58. J. Pept. Sci. 2017. Vol. 23: 855-863 (DOI: 10.1002/psc.3049).
 24. Walsh C. Where will new antibiotics come from? Nat. Rev. Microbiol. 2003. Vol. 1, №1: 65-70 (DOI: 10.1038/nrmicro727).
 25. WHO: First ever list of antibiotic-resistant "priority pathogens". GENEVA, 2017(URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed>).

Получена 27 июня 2020 г.

(Контактная информация:

Гриценко Виктор Александрович – д.м.н., профессор, ученый секретарь Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, главный научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; e-mail: vag59@mail.ru;

Зурочка Александр Владимирович – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН, профессор кафедры пищевых и биотехнологий Южно-Уральского государственного университета (национального исследовательского университета); e-mail: av_zurochka@mail.ru)

REFERENCES

1. Bukharin O.V., Brudastov Yu.A., Gritsenko V.A., Deryabin D.G. The role of the ability of bacteria to inactivate factors of natural anti-infectious resistance in their resistance to the bactericidal action of blood (blood serum). *Bull. expert. biology and medicine*. 1996. No 2: 174-176.
2. Gorbich Yu.L., Karpov I.A. The importance of adequate empiric therapy for nosocomial infections caused by *Acinetobacter baumannii*. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2012. Vol.14, No. 1: 67-73.
3. Gritsenko V.A., Ivanov Yu.B. The role of persistent properties in the pathogenesis of endogenous infections. *Journal. microbiol.* 2009. No. 4: 66-71.
4. 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. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2015. No. 2: 1-10 [Electr. resource] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
5. Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko V.A. Evaluation 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. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2018. No. 4. 17 s. [Electr. resource] (DOI: 10.24411 / 2304-9081-2018-14011).
6. Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Mrugova T.M., Gritsenko V.A. Antibacterial activity of the "Acegram" cosmetic product against gram-negative bacteria. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2017. No. 4. 13c. [Electr. resource] (DOI: 10.24411 / 2304-9081-2017-00030).
7. Zurochka A.V., Gritsenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. The 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. *Russian journal of immunology*. 2015. Vol. 9 (18), No. 2: 30-35.
8. Zurochka VA, Zurochka AV, Dobrynina MA, Zueva EB, Gritsenko VA, Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P. Sensitivity analysis of clinical staphylococcal isolates to synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Russian journal of immunology*. 2015. T. 9 (18), No. 3 (1): 82-85.
9. 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. *Russian Journal of Immunology*. 2016. Vol. 10 (19), No. 3: 269-272.
10. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Chereshev V.A. The phenomenon of a unique combination of immunobiological properties in a synthetic analogue of the active center of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2016. No. 2. 30c. [Electr. resource] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>).
11. 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. Ivanov D.V., Krapivina I.V., Galeva E.V. Nosocomial infections: epidemiology, pathogenesis, etiology, antibiotic therapy and prevention. // *Antibiotics and chemotherapy*. 2005. Vol.

- 50, No. 12: 19-28.
13. Lakin G.F. Biometrics. М.: Higher school, 1990.352 p.
 14. MR 02.032-08. Identification of microorganisms and determination of their sensitivity to antibiotics using an automatic microbiological analyzer VITEK 2 Compact. Guidelines. М., 2008.
 15. Mrugova T.M., Kachalova I.V. Features of the taxonomic structure and antibiotic resistance of microflora isolated from patients in a multidisciplinary surgical hospital. Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 2016. No. 2. 12c. [Electr. resource] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/MTM-2016-2.pdf>).
 16. Order of the USSR Ministry of Health of April 22, 1985 No. 535 "On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions." М., 1989.126 p.
 17. Trukhacheva N.V. Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package. М.: GOETAR-Media, 2013.220s.
 18. 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. № 3: 238-250 (DOI:10.1038/nrmicro1098).
 20. 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).
 21. 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. V.69.№9. P. 2337-2353.
 22. 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. Vol. 46: 155-164.
 23. 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. Vol. 23: 855-863 (DOI: 10.1002/psc.3049).
 24. Walsh C. Where will new antibiotics come from? Nat. Rev. Microbiol. 2003. Vol. 1, №1: 65-70 (DOI: 10.1038/nrmicro727).
 25. WHO: First ever list of antibiotic-resistant "priority pathogens". GENEVA, 2017(URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed>).

Образец ссылки на статью:

Гриценко В.А., Зурочка А.В. Реакция *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* на бактерицидное действие синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2020. 2. 9с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2020-2/Articles/VAG-2020-2.pdf>).

DOI: 10.24411/2304-9081-2020-12003