

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СПРЕЯ НА ОСНОВЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА

Н.Г. Саркисян<sup>1,2</sup>, Н.Н. Катаева<sup>1</sup>, И.А. Тузанкина<sup>2</sup>, С.Г. Меликян<sup>1</sup>, В.А. Зурочка<sup>2,3</sup>,  
А.В. Зурочка<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия

**Резюме.** Традиционно в лечении заболеваний пародонта используют антибактериальные препараты. Однако с ростом устойчивости к большинству этих препаратов появилась необходимость в разработке новых подходов к лечению заболеваний полости рта. На сегодняшний день в стоматологии наиболее актуальным направлением является создание антибактериальных лекарственных средств на основе природных, полусинтетических и синтетических пептидов, которые могут выступать альтернативой антибактериальным препаратам. Одним из таких средств, содержащих в качестве основного действующего вещества синтетический пептид (ZP2) активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), является «Ацеграм-спрей» (производство ООО «Академический инновационный научный центр», г. Челябинск). Цель исследования: оценить эффективность комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта с помощью «Ацеграм-спрея»; показать взаимосвязь биологических свойств пептида ZP2, физико-химических свойств спрея на его основе с механизмом антибактериального и иммуностропного действия в рамках обоснования его применения на слизистой полости рта. Результаты первого этапа исследования показали, что пептид ZP2 обладает способностью вызывать бластную трансформацию лимфоцитов *in vitro*. Это свидетельствует о возможности его влияния на процессы пролиферации клеток и о его выраженной иммуностропной активности. Следующим этапом исследований была оценка влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на формирование биопленок клиническими изолятами стафилококков. Пептид ZP2 угнетал формирование биопленок у 75,0±9,0% штаммов *S. aureus* и 50,0±15,1% штаммов *S. epidermidis* со средним уровнем ингибирования формирования биопленок на 25,1±3,8 и 50,4±6,0% соответственно. Вместе с тем среди клинических изолятов стафилококков встречалось 8,3–25,0% штаммов, у которых под действием пептида в данной концентрации наблюдалась стимуляция образования биопленок на 14,9–48,5%, а также 16,7–25,0% культур, у которых формирование биопленок не изменялось. Таким образом, пептид ZP2 оказывает на формирование биопленок клиническими штаммами стафилококков разнонаправленное, но преимущественно ингибирующее действие, выраженность которого характеризуется меж- и внутривидовой (штаммовой) вариабельностью. Применение спрея на основе синтетического пептида в ходе антибактериальной терапии при лечении хронического генерализованного пародонтита легкой степени тяжести у пациентов основной груп-

**Адрес для переписки:**

Саркисян Нарине Гришаевна  
620028, Россия, г. Екатеринбург, Репина, 3, ФГБОУ ВО  
Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ.  
Тел./факс: 8 (343) 214-86-52.  
E-mail: narine\_25@mail.ru

**Contacts:**

Narine G. Sarkisian  
620028, Russian Federation, Yekaterinburg, Repin str., 3,  
Ural State Medical University.  
Phone/Fax: +7 (343) 214-86-52.  
E-mail: narine\_25@mail.ru

**Библиографическое описание:**

Саркисян Н.Г., Катаева Н.Н., Тузанкина И.А., Меликян С.Г., Зурочка В.А.,  
Зурочка А.В. Оценка эффективности спрея на основе синтетического  
пептида в комплексном лечении хронического генерализованного  
пародонтита // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 3–4. С. 549–558.  
doi: 10.15789/2220-7619-2019-3-4-549-558

**Citation:**

Sarkisian N.G., Kataeva N.N., Tuzankina I.A., Melikyan S.G., Zurochka V.A.,  
Zurochka A.V. Assessing efficiency of synthetic peptide-containing spray  
in combination therapy of chronic generalized periodontitis // Russian  
Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2019, vol. 9,  
no. 3–4, pp. 549–558. doi: 10.15789/2220-7619-2019-3-4-549-558

пы исследования выявило улучшение гигиенического состояния полости рта на 28,5%, снижение индекса РМА на 82,8%, уменьшение индекса кровоточивости десны на 100% через месяц после лечения. У пациентов группы сравнения, проходивших стандартное лечение, аналогичные показатели оценки состояния тканей пародонта были количественно ниже в среднем в 2 раза. В результате анализа физико-химических свойств спрея, таких как водородный показатель, буферная емкость и осмотическое давление раствора была показана их взаимосвязь с механизмом антибактериального действия препарата и эффективностью применения препарата при лечении воспалительных заболеваний пародонта. Таким образом, оценка биологических свойств пептида и физико-химических показателей средства на его основе позволяет определить их роль в механизме антибактериального и иммуностропного действия, ранее не описанную. Данные выводы подтверждают целесообразность и эффективность применения «Ацеграм-спрея» в стоматологии в качестве альтернативы противомикробным средствам, таким как антибактериальные препараты.

**Ключевые слова:** заболевание пародонта, синтетический пептид, иммуностропная активность, физико-химические свойства, антибактериальное действие.

## ASSESSING EFFICIENCY OF SYNTHETIC PEPTIDE-CONTAINING SPRAY IN COMBINATION THERAPY OF CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS

Sarkisian N.G.<sup>a,b</sup>, Kataeva N.N.<sup>a</sup>, Tuzankina I.A.<sup>b</sup>, Melikyan S.G.<sup>a</sup>, Zurochka V.A.<sup>b,c</sup>, Zurochka A.V.<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute of Immunology and Physiology Ural detachment of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

<sup>c</sup> South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

**Abstract.** Antibacterial drugs are routinely used in therapy of periodontal diseases. However, increasing incidence of antibiotics resistance necessitates development of novel therapeutic approaches for oral diseases. Currently, newly designed antibacterial agents based on natural, semi-synthetic and synthetic peptides is the most promising approach in dentistry. Among them is a product containing synthetic peptide (ZP2) replicating active site of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the main active ingredient in Atsegram-spray (manufactured by Academic Innovation Research Center, Chelyabinsk). Our study was aimed at assessing efficacy of a combination therapy of inflammatory periodontal diseases by introducing Atsegram-spray as well as examining potential relationship between peptide ZP2-related biological properties, physicochemical properties of the spray and mechanism of antibacterial and immunotropic action for substantiating its application on oral mucosa. During the first stage experiments, it was found that the peptide ZP2 was able to trigger lymphocyte blast transformation in vitro indicating that it might influence cell proliferation and exhibit marked immunotropic activity. Next, we assessed potential effects of the peptide ZP2 on biofilm formation mediated by staphylococcal clinical isolates. It was shown that peptide ZP2 inhibited biofilm formation in 75.0±9.0% of *S. aureus* and 50.0±15.1% of *S. epidermidis* strains, with mean inhibition index of biofilm formation reaching 25.1±3.8 and 50.4±6.0%, respectively. However, peptide ZP2 in 8.3–25.0% of staphylococcal clinical isolates was found to stimulate/lack effect on biofilm formation by 14.9–48.5 and 16.7–25.0% cultures, respectively. Thus, the synthetic peptide ZP2 exerts divergent, but mainly inhibitory effects on biofilm formation with staphylococcal clinical strains, which are characterized by inter- and intraspecific (strain) variability. Use of a synthetic peptide-based spray in antibacterial therapy of mild chronic generalized periodontitis (main group) one month after the onset was found to improve oral hygiene by 28.5% as well as decrease PMA index and gum bleeding index by 82.8 and 100%, respectively. In contrast, such parameters in patients receiving basic therapy (comparison group) were lower on average by 2-fold. While analyzing physicochemical properties of the spray such as pH, buffer capacity and solution osmotic pressure, it was found that they were related to the antibacterial mechanism of drug activity and efficacy in treatment of inflammatory periodontal diseases. Thus, assessing peptide ZP2-related biological properties and physicochemical parameters of the spray allows to evaluate their role in mechanism of previously unknown antibacterial and immunotropic activity. These findings confirm feasibility and efficacy of using Atsegram-spray in dentistry as an alternative means to antimicrobial agents, such as antibacterial drugs.

**Key words:** periodontal disease, synthetic peptide, immunotropic activity, physical and chemical properties, antibacterial effect.

## Введение

В слюне здорового человека находится достаточное количество пептидов, обеспечивающих поддержание генетического постоянства внутренней среды. Помимо того, пептиды участвуют в защите тканей полости рта от внедрения патогенов, а также от механических, темпера-

турных и химических воздействий. Несмотря на это, по данным ВОЗ, одно из ведущих мест среди заболеваний организма занимают болезни полости рта, вызванные чрезмерным ростом микроорганизмов [18]. К таким заболеваниям можно отнести пародонтит. Согласно результату II национального эпидемиологического обследования населения, здоровый пародонт встре-

чается лишь у 10% населения России. Выявлено, что воспалительные процессы начального характера встречаются у 54% населения, тогда как проявления средней и тяжелой степени наблюдаются у 24 и 14% соответственно [17].

Лечение воспалительных процессов в тканях пародонта требует комплексного подхода, так как представляет собой многогранную проблему. В настоящее время ведутся поиски наиболее эффективных методов этиопатогенетического лечения, направленных на обеспечение клинической ремиссии заболеваний пародонта [15].

Традиционно, в лечении заболеваний пародонта используются антибактериальные препараты. Однако с ростом устойчивости к этим лекарственным средствам появилась необходимость в разработке новых подходов к лечению заболеваний полости рта. На сегодняшний день в стоматологии наиболее актуальным направлением является создание антибактериальных средств на основе природных, полусинтетических и синтетических пептидов, которые могут выступать альтернативой антибиотикам [10].

Одним из таких препаратов, содержащих в качестве основного действующего вещества синтетический пептид (ZP2) активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), является «Ацеграм-спрей» (производство ООО «Академический инновационный научный центр», г. Челябинск) [6]. Изучение биологических свойств пептида ZP2, в рамках ранее проведенного исследования выявило, что он обладает антибактериальной активностью в отношении как грамположительной, так и грамотрицательной флоры [6]. Представляет интерес детальное изучение иммуностропных свойств пептида, а также исследование ряда физико-химических свойств спрея на его основе, которые позволяют описать механизм действия препарата, в том числе в процессе его применения на слизистой полости рта.

Цель исследования: оценить эффективность комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта с помощью «Ацеграм-спрея», содержащего в качестве активного вещества синтетический пептид; показать взаимосвязь биологических свойств пептида, физико-химических свойств спрея на его основе с механизмом антибактериального и иммуностропного действия в рамках обоснования его применения на слизистой полости рта.

## Материалы и методы

Объект исследования: синтетический пептид ZP2 (химическая формула — THR-NLE-NLE-ALA-SER-HIS-TYR-LYS-GLN-HIS-CYS-PRO) активного центра ГМ-КСФ в составе

косметического средства «Ацеграм-спрей», сертификат соответствия РОСС RU.AB66.H00566 (№ 0203563), ТУ 20.42.15-001-686817-50-2017. По протоколу лабораторных исследований № 25556.07.04 от 24.10.2017 г. средство не содержит токсических примесей, не обладает токсическими свойствами, не обладает кожно-раздражающим действием. Препарат способствует восстановлению слизистой оболочки полости рта после проведения стоматологических оперативных вмешательств, рекомендован при антибактериальной терапии заболеваний пародонта, для лечения стоматитов и гингивитов. Средство объемом 100 мл содержит 200 мкг синтетического пептида ZP2, изотонический раствор NaCl 0,9% 100 мл, стабилизатор Benzyltrimethylammonium chloride 0,1% раствор на 100 мл препарата. По данным авторов стабилизатор в данной концентрации не оказывал дополнительного антибактериального эффекта в отношении грамотрицательных бактерий [6, 7, 8].

Для характеристики иммуностропных эффектов синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ была дана экспериментальная оценка его влияния на пролиферативную активность лимфоцитов в реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ), которую оценивали методом проточной цитометрии [13]. Пролиферативное действие синтетического пептида ZP2 изучали в концентрации 10 мкг/мл. В качестве контроля был использован ФГА (Дифко, США) в стандартной концентрации для РБТЛ (1 и 10 мкг/мл) и интерлейкин 2 (IL-2) в концентрации 10 мкг/мл.

Оценку влияния пептида ZP2 на биообразование бактерий проводили в опыте *in vitro* на 36 клинических штаммах стафилококков из коллекции ИКВС УрО РАН, в том числе на 24 культурах *Staphylococcus aureus* и 12 изолятах *S. epidermidis*, выделенных из ран у больных с синдромом диабетической стопы и отделяемого из влагалища у женщин с субмукозной миомой матки. Видовую идентификацию клинических изолятов стафилококков проводили общепринятыми методами, в том числе по биохимическим признакам с использованием официальных тест-систем «Staphy Test» (Lachema, Чехия).

Исследование влияния синтетического пептида ZP2 на биообразование (БПО) клинических штаммов стафилококков осуществляли с помощью «планшетного метода» [19] с незначительными модификациями по протоколу Stepanovic S. [26], путем их выращивания в стерильном 96-луночном полистироловом планшете. Для этого в микроячейки с 225 мкл мясопептонного бульона (МПБ) без синтетического пептида ZP2 (контроль) и с его наличием в кон-

центрации 10 мкг/мл (опыт) вносили 25 мкл взвесей микроорганизмов, приготовленных из суточных агаровых культур бактерий и содержащих  $5 \times 10^8$  КОЕ/мл. После инкубирования планшетов в течение 24 ч при 37°C из лунок удаляли планктонные клетки, отсасывая микропипеткой надосадок; образовавшиеся на дне микрочаек биопленки трехкратно отмывали 300 мкл стерильного фосфатно-солевого буфера (рН = 7,2), фиксировали (подсушивание при 37°C в течение 2 ч) и окрашивали их 2% раствором кристаллвиолета (150 мкл; 15 мин при комнатной температуре), после чего лунки трех- или четырехкратно промывали дистиллированной водой (до ее полного просветления); для экстракции красителя из биопленок в лунки вносили по 200 мкл смеси этанола и уксусной кислоты (95:5), выдерживали 30 мин, а затем 150 мкл надосадка отсасывали и переносили в чистый планшет для замера оптической плотности (OD) при длине волны 540 нм с помощью планшетного фотометра Multiscan Ascent (Thermo Electron Co., Китай). Интенсивность окрашивания надосадка, рассчитываемая путем вычитания из OD (биопленка) OD отрицательного контроля (лунка с МПБ без культуры бактерий), соответствовала степени биопленкообразования (БПО, усл. ед.) исследуемых культур стафилококков. Эксперименты делали в трех повторностях, вычисляли средние значения БПО.

Изучение физико-химических свойств «Ацеграм-спрея» проводилось на базе кафедры общей химии Уральского государственного медицинского университета, г. Екатеринбург. Для водных растворов «Ацеграм-спрея» определяли следующие физико-химические показатели: водородный показатель (рН), буферную емкость по кислоте и по основанию (Вк, Во, ммоль  $\times$  экв/л), осмомоляльность (ммоль/1кг H<sub>2</sub>O) и осмотическое давление (кПа). Измерение водородного показателя и буферной емкости осуществляли потенциометрически на рН-метре со стеклянным электродом «рН-150МИ» (ООО «Измерительная техника», Москва). Для установления буферной емкости готовили водный раствор с объемной долей по препарату 10%. Осмомоляльность определяли с помощью осмометра криоскопического медицинского «ОСКР-1М» («КИВИ осмометрия», Санкт-Петербург). Осмотическое давление рассчитывали на основе закона Вант-Гоффа.

В клинической части исследования приняло участие 10 человек в возрасте 26–39 лет, которые относятся ко II группе здоровья (ВОЗ) с диагнозом «К 05.31. Хронический генерализованный пародонтит (МКБ 10) легкой степени тяжести в стадии обострения». Диагноз установлен на основании клинических и рентгенологических методов обследования, которые проводи-

ли в стоматологической клинике «Дента ОС» г. Екатеринбурга. Клиническое обследование всех пациентов включало в себя опрос, осмотр полости рта, определение состояния твердых тканей зубов и пародонта. Была проведена индексная оценка гигиенического состояния по методике Грина–Вермильона. Состояние тканей пародонта определяли с помощью индекса РМА в модификации Parma, индекса кровоточивости десневого края (Мюллемана).

В контрольной группе (5 пациентов) лечение включало профессиональную гигиену полости рта, а также введение в пародонтальные карманы антисептического раствора хлоргексидина биглюконата 0,1%, повязки на десну с гелем противомикробного действия «Метрогил-дента». Кратность процедуры: 2 раза в сутки в течение 7 дней. В основной группе (5 пациентов) в комплексном лечении была проведена профессиональная гигиена полости рта, а также назначен «Ацеграм-спрей», который вводили в пародонтальные карманы, предварительно обработанные водой для инъекций, по 0,3 мл 1 раз в день курсом 7 дней. Оценку клинических признаков выраженности воспалительного процесса осуществляли до лечения и через один месяц после лечения. Данные были обработаны методами вариационной статистики [12, 16].

## Результаты и обсуждение

На первом этапе изучалось влияние пептида ZP2, входящего в состав «Ацеграм-спрея», на РБТЛ. Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Как показали исследования, пептид ZP2 обладает способностью вызывать бластную трансформацию лимфоцитов *in vitro*. Это свидетельствует о возможности его влияния на процессы пролиферации клеток и о его выраженной иммуностропной активности. При этом надо отметить, что пептид обладал значительно более высокой активностью по сравнению со стандартным митогеном ФГА и IL-2.

Следующим этапом исследований была оценка влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на формирование биопленок клиническими изолятами стафилококков.

Золотистые и коагулазоотрицательные стафилококки занимают лидирующие позиции в структуре возбудителей таких эндогенных бактериальных инфекционно-воспалительных заболеваний, как пародонтит, послеоперационные (нозокомиальные) инфекционные осложнения [5]. При развитии инфекционно-воспалительного процесса в него неминуемо вовлекаются клетки иммунной системы, синтезирующие различные цитокины, выполняющие регуляторную функцию [11].

Одним из таких цитокинов является ГМ-КСФ [22], синтетический аналог активного центра которого, в частности пептид ZP2, проявляет плеiotропные эффекты, обладая, помимо функции стимуляции костномозгового кроветворения, иммуномодулирующей активностью (как показано выше). Кроме того, в серии экспериментальных работ на эталонных (музейных) и клинических штаммах микроорганизмов, в том числе стафилококков, установлено, что синтетический пептид ZP2 оказывает ингибирующее действие на развитие бактериальных популяций в жидкой питательной среде, характер и выраженность которого зависит от таксономической принадлежности стафилококков. В то же время влияние синтетического пептида ZP2 на качественные (биологические, патогенные, персистентные) свойства микроорганизмов пока не было охарактеризовано, что послужило побудительным мотивом для проведения настоящего исследования. В качестве «биомишени» была выбрана способность микроорганизмов формировать биопленки, поскольку данное свойство относится к факторам персистенции и адаптации бактерий, в том числе стафилококков [2, 19, 25].

С этой целью провели оценку влияния пептида ZP2 на формирование биопленок клиническими изолятами стафилококков разных видов в экспериментах *in vitro*.

Сравнительный анализ средних значений степени биоопленкообразования (БПО) клинических изолятов *S. aureus* (n = 24) и *S. epidermidis* (n = 12) выявил, что золотистые стафилококки по этому показателю значительно (в 2 раза) уступали эпидермальным стафилококкам ( $0,44 \pm 0,04$  против  $0,87 \pm 0,14$  усл. ед.;  $p > 0,01$ ). Это отражает межвидовые отличия золотистых и коагулазоотрицательных стафилококков по способности формировать биопленки, на что ранее указывали другие авторы [20, 21, 25].

В то же время следует отметить наличие выраженной внутривидовой вариабельности данного признака, о чем свидетельствовали широкие диапазоны варьирования БПО у клинических изолятов *S. aureus* и *S. epidermidis* (соответственно  $0,20 \dots 0,93$  и  $0,31 \dots 2,06$  усл. ед.).

Оценивая влияние синтетического пептида ZP2 на формирование биопленок клиническими штаммами *S. aureus* и *S. epidermidis*, можно констатировать, что независимо от родовой принадлежности стафилококков под действием данного пептида у изученных бактерий наблюдалось ингибирование способности к БПО: в среднем на 22,2% — для золотистого стафилококка (с  $0,44 \pm 0,04$  до  $0,36 \pm 0,04$  усл. ед.) и на 33,8% — для эпидермального стафилококка (с  $0,87 \pm 0,14$  до  $0,65 \pm 0,10$  усл. ед.).

**Таблица 1. Исследование влияния пептидов активного центра ГМ-КСФ на РБТЛ**

Table 1. Study of the effect of GM-CSF active center peptides on RBTL

№	Вещество Substance	Содержание бластных клеток, % Content blast cells, %
1	<b>Спонтанный уровень</b> Spontaneous level	11,65–1,3
2	<b>ФГА — 1 мкг/мл</b> PHA — 1 µg / m	26,2–1,7
3	<b>ФГА — 10 мкг/мл</b> PHA — 10 µg / m	62,85–2,8*
4	<b>IL-2 — 10 мкг/мл</b> IL-2 — 10 µg/ml	72,46–3,24*
5	<b>ZP2 — 10 мкг/мл</b> ZP2 — 10 µg/ml	97,35–5,4*,**

**Примечание.** \* $p < 0,05$  по отношению к спонтанному уровню реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ); \*\* $p < 0,05$  по отношению к интерлейкину 2 (IL-2) и фитогемагглютинуину (ФГА). ZP2 — синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ.

Note. \* $p < 0.05$  in relation to the spontaneous level of the reaction of blast transformation of lymphocytes (RBTL); \*\* $p < 0.05$  with respect to interleukin 2 (IL-2) and phytohemagglutinin (PHA). ZP2 is a synthetic peptide of the active site of GM-CSF.

Вместе с тем при детальном анализе влияния синтетического пептида ZP2 на биоопленкообразование отдельными штаммами стафилококков (в парах контроль—опыт) было отмечено, что данный пептид оказывал разнонаправленное действие на способность формировать биопленки как клиническими изолятами *S. aureus*, так и культурами *S. epidermidis*.

Таким образом, в структуре клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis*, кроме изолятов стафилококков, у которых выявлялся ингибирующий эффект синтетического пептида ZP2 на БПО, имелись культуры бактерий (16,7 и 25,0% соответственно) с индифферентной реакцией на него, а также определенная доля штаммов золотистых и эпидермальных стафилококков, у которых под действием данного пептида происходила стимуляция способности к формированию биопленок (8,3 и 25,0% соответственно).

Эти результаты свидетельствовали о выраженной внутривидовой вариабельности стафилококков разных родов не только по способности к формированию биопленок, но и по реакции на действие синтетического пептида ZP2, что может быть связано с наличием в изученных выборках разных клоновых линий стафилококков, у которых генетическая детерминация БПО может иметь существенные отличия.

Более подробная информация о влиянии синтетического пептида ZP2 на БПО клиническими штаммами *S. aureus* и *S. epidermidis* представлена в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, синтетический пептид ZP2 угнетал формирование биопленок у 75,0±9,0% штаммов *S. aureus* и 50,0±15,1% штаммов *S. epidermidis* со средним уровнем ингибирования формирования биопленок на 25,1±3,8 и 50,4±6,0% соответственно. Вместе с тем среди клинических изолятов стафилококков встречалось 8,3–25,0% штаммов, у которых под действием пептида в данной концентрации наблюдалась стимуляция образования биопленок на 14,9–48,5%, а также 16,7–25,0% культур, у которых формирование биопленок не изменялось.

Таким образом, синтетический пептид ZP2 оказывает на формирование биопленок клиническими штаммами стафилококков разнонаправленное, но преимущественно ингибирующее действие, выраженность которого характеризуется меж- и внутривидовой (штаммовой) вариабельностью.

В итоге, несмотря на выявленную меж- и внутривидовую вариабельность чувствительности стафилококков к антибактериальному действию синтетического пептида ZP2, рост в жидкой питательной среде большинства клинических изолятов данных микроорганизмов существенно ингибировался указанным пептидом, что определяет перспективность его использования при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний стафилококковой этиологии, в том числе эндогенной природы [4]. Поскольку известно, что регуляторные пути для формирования биопленок различаются

между клоновыми линиями — СС1-СС8 стафилококков [24], возник вопрос, можно ли выявленные нами различия объяснить этой причиной. Для развития биопленки у золотистого стафилококка в норме в генетическом локусе необходим стафилококковый регулятор (*sarA*), который контролирует внутриклеточный адгезин (*ica*-оперон) и *agr*-регулируемые пути [23]. Было высказано предположение, что образование биопленок метициллин-устойчивыми вариантами *S. aureus* (MRSA) преимущественно находится под регулирующим контролем клеточной *agr*-системы и сопряжено с поверхностными адгезинами, тогда как у метициллин-чувствительных культур *S. aureus* (MSSA) выраженность данного свойства больше зависит от работы *icaADBC* оперона, имеющего отношение к межклеточной адгезии (типа cell to cell) и синтезу полисахаридного межклеточного адгезина (polysaccharide intercellular adhesin — PIA), также называемому поли-N-ацетилглюкозамин (PNAG) или слизию [23]. Однако четкая роль *ica* локуса у золотистого стафилококка не так очевидна, как у эпидермального стафилококка [20]. При этом надо принять во внимание ранее проведенные нами исследования о том, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ снижает рост и размножение данных клинических изолятов стафилококков [9].

Таким образом, результаты изучения биологических свойств свидетельствуют о том, что синтетический пептид активного центра

**Таблица 2. Влияние синтетического пептида ZP2 на биопленкообразование (БПО) клиническими штаммами стафилококков**

Table 2. Effect of synthetic peptide ZP2 on biofilm formation (BPO) by clinical strains of staphylococci

Параметры биопленкообразования (БПО) бактерий Characteristic biofilm (BPO) bacteria's	Значения параметров у разных видов стафилококков Parameter values of different types of <i>Staphylococcus</i>	
	<i>S. aureus</i> (n = 24)	<i>S. epidermidis</i> (n = 12)
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 ингибировал БПО, абс. (%) The number of strains of bacteria which inhibited ZP2 PCM, abs. (%)	18 (75,0±9,0)	6 (50,0±15,1)
Диапазон ингибирования БПО (min-max, %) BPO inhibition range (min-max, %)	6,6–24,4	31,7–69,8
Средние значения уровня ингибирования БПО (%) The average rate of inhibition of BPO (%)	25,1±3,8	50,4±6,0*
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 не изменял БПО, абс. (%) The number of strains of bacteria in which ZP2 did not change BPO, abs. (%)	4 (16,7±7,8)	3 (25,0±13,1)
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 стимулировал БПО, абс. (%) The number of strains of bacteria in which ZP2 stimulated BPO, abs. (%)	2 (8,3±5,8)	3 (25,0±13,1)
Диапазон стимуляции БПО (min-max, %) The range of stimulation BPO (min-max, %)	18,1–21,6	28,6–48,5
Средние значения уровня стимуляции БПО (%) The average rate of stimulation of BPO (%)	19,9±1,8	39,8±5,9*

**Примечание.** \* Достоверность отличий между группами,  $p < 0,05$ . ZP2 — синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ.  
Note. \* Reliability of differences between groups,  $p < 0.05$ . ZP2 is a synthetic peptide of the active site of GM-CSF.

ГМ-КСФ обладает антибактериальной и иммуностимулирующей активностью, в том числе снижает биопленкообразование у большинства золотистых стафилококков (75%) и, частично (50%), у эпидермальных стафилококков, что должно положительно сказаться при терапии гнойно-воспалительных заболеваний, в том числе и ротовой полости, и, в частности, пародонта. Нужно учесть, что пептид имеет не один механизм воздействия на бактерии, так как в различных концентрациях подавляет рост и размножение стафилококков [9]. Значимость вклада грамположительных стафилококков, как и других видов бактерий в формирование воспалительных заболеваний десен, конечно же, требует дополнительных исследований. Но, учитывая широкий спектр антибактериального действия косметического средства «Ацеграм-спрей» в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий [6, 7, 8, 9], оно может быть использовано в качестве антисептического средства в стоматологической практике. Полученные данные являются предпосылкой для того, чтобы оценить эффективность применения препарата на основе пептида активного центра ГМ-КСФ в комбинированной терапии как дополнение к стандартным протоколам ведения больных с воспалительными заболеваниями десен.

При изучении стоматологического статуса пациентов после завершения базисной терапии (группа сравнения) отмечался положительный клинический эффект. Это проявилось в уменьшение гиперемии и отека слизистой оболочки десны, снижение кровоточивости десен, хотя усеченные вершины десневых сосочков сохраняли цианотичный оттенок. Гигиеническое

состояние полости рта улучшилось на 42,1%, в группе сравнения индекс гигиены остался «удовлетворительным», индекс РМА снизился на 66,6%, ИК уменьшился на 71,4%.

У больных, которым «Ацеграм-спрей» вводился в пародонтальные карманы (основная группа), отмечена более заметная положительная динамика: слизистая оболочка становилась бледно-розовой, ее отек и кровоточивость практически отсутствовали. Это подтверждалось и оценкой состояния тканей пародонта (ОНИ-S, РМА, РВИ). Наблюдалось снижение показателей в среднем в 2 раза по отношению к группе сравнения (табл. 3). При этом гигиеническое состояние полости рта улучшилось на 67,3%, в основной группе до лечения был «плохим», стал «хорошим»; значение индекса РМА снизилось на 82,8%, а значение индекса кровоточивости достигло 0, что говорит об отсутствии выраженных воспалительных явлений в тканях пародонта.

В ходе изучения физико-химических свойств, в частности потенциометрического измерения, были определены водородные показатели непосредственно «Ацеграм-спрея» (рН = 6,56) и разбавленного водного раствора данного препарата с  $\phi = 10\%$  (рН = 6,54). При разбавлении водой произошло незначительное уменьшение рН, так как водородный показатель дистиллированной воды, использованной в ходе приготовления раствора, составлял 5,56. Водородный показатель препарата близок к интервалу значений рН смешанной слюны, который в норме у взрослых людей составляет 6,8–7,4 [3], что предотвращает дискомфортные ощущения, например, чувство жжения при контакте препарата со слизистой оболочкой полости рта. При разбавлении водой происходит небольшое уменьшение рН,

**Таблица 3. Динамика значений индексов состояния полости рта и тканей пародонта у больных хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести**

Table 3. Dynamics of values of indices of the oral cavity and periodontal tissues in patients with chronic generalized periodontitis of mild severity

Индексы Indexes	До лечения Before treatment		Через месяц после лечения One month after treatment	
	Группа сравнения Group comparisons n = 5	Основная группа Major group n = 5	Группа сравнения Group comparisons n = 5	Основная группа Major group n = 5
Индекс гигиены Грина–Вермиллиона (ОНИ-S) Green–Vermillion hygiene index	1,9±0,2	2,1±0,2	1,1±0,1	0,3±0,3*
Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА Parma, %) Papillary-marginal-alveolar index	24±0,21	28±0,12	8,0±0,14	0,8±0,13
Индекс кровоточивости (РВИ Muhlemann) Bleeding index	0,7±0,2	0,9±0,1	0,2±0,1	0*

**Примечание.** \*Показатель достоверно отличался от показателя в группе сравнения,  $p < 0,5$ .

Note. \*Reliability of differences between groups,  $p < 0.5$ .

что свидетельствует о буферных свойствах препарата, способного поддерживать постоянное значение водородного показателя при десятикратном разбавлении.

Количественной характеристикой, подтверждающей буферные свойства системы, является буферная емкость [15]. В ходе исследования были измерены величины рН 10%-го раствора препарата после добавления минеральной кислоты и щелочи, полученные результаты использовались для расчета буферной емкости по кислоте ( $V_k$ ) и буферной емкости по основанию ( $V_o$ ). Величины буферной емкости  $V_k = 7,5 \times 10^{-2}$  ммоль $\times$ экв/л,  $V_o = 3 \times 10^{-2}$  ммоль $\times$ экв/л свидетельствуют о том, препарат обладает относительно невысокими буферными свойствами. При разбавлении буферного раствора величина буферной емкости уменьшается вследствие снижения концентрации всех компонентов раствора [15], поэтому буферная емкость 100% препарата будет на порядок выше, чем у 10% раствора. Буферная емкость исследуемого средства по кислоте в 2,5 раза превышает буферную емкость по основанию. Данную разницу величин  $V_k$  и  $V_o$  можно объяснить особенностями химического строения главного компонента препарата — синтетического пептида ZP2, в составе которого преобладают основные группы таких аминокислот, как лизин и гистидин. Основной характер пептида, и, как следствие, более высокая буферная емкость по кислоте, оправдан целевым назначением спрея. Такие заболевания, как стоматит, гингивит, фарингит, приводят к ацидозу слюны, поскольку патогенные микроорганизмы, например, грибы рода *Candida*, стафилококки, стрептококки активно синтезируют молочную и другие органические кислоты [3]. Для восстановления кислотно-основного равновесия в ротовой полости кислые продукты метаболизма грибков, бактерий и вирусов должны быть нейтрализованы основанием, роль которого выполняет пептид «Ацеграм-спрей».

При растворении в воде основные пептиды приобретают положительный заряд, что повышает их растворимость. Известно, что катионы легко адсорбируются на клеточных стенках бактерий, содержащих отрицательно заряженные фосфатные и карбоксильные группы. Это вызывает изменение осмотического равновесия и нарушение целостности бактериальной мембраны [1]. В ходе исследования криоскопическим методом была определена осмоляльность «Ацеграм-спрея» (296 ммоль/кг  $H_2O$ ) и посчитано осмотическое давление (~806 кПа при  $T = 310$  К). По отношению к бактериям, внутриклеточное давление которых варьируется в пределах 400–3000 кПа [1], водный 100% раствор препарата может быть гипо- или гипертоническим.

В литературных источниках есть информация о том, что наиболее распространенные бактерии ротовой полости — стафилококки и стрептококки — устойчивы в гипертонических растворах хлорида натрия [3], поэтому можно предположить, что «Ацеграм-спрей» гипотоничен по отношению к ним и вызывает лизис бактериальных клеток.

Сравнивая величины осмоляльностей смешанной слюны взрослого человека (50–110 ммоль/кг  $H_2O$ ) и «Ацеграм-спрея» (296 ммоль/кг  $H_2O$ ), можно сделать вывод о гипертонических свойствах препарата по отношению к клеткам слизистой ротовой полости. Следовательно, спрей способствует уменьшению отека тканей слизистой при воспалении за счет плазмолиза клеток (то есть оттока воды из клеток наружу).

Таким образом, в ходе работы была выявлена взаимосвязь биологических свойств пептида ZP2, физико-химических свойств «Ацеграм-спрея» с механизмом антибактериального и иммуностропного действия препарата, что подтверждает возможность применения данного средства при лечении хронического генерализованного пародонтита.

## Заключение

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что средство «Ацеграм-спрей», основу которого составляет синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ, позволяет улучшить клиническую картину и индексные показатели, повысить эффективность стандартной терапии воспалительных заболеваний пародонта, также выбрать наиболее оптимальную методику применения спрея у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения.

Анализ биологических свойств индивидуального пептида и физико-химических показателей средства на его основе показывает их роль в механизме антибактериального и иммуностропного действия, ранее не описанную.

Полученные данные позволяют предположить, что применение «Ацеграм-спрея» в комплексном лечении у пациентов с хроническим пародонтитом дает положительный эффект, что определяет необходимость дальнейшего развития представленной работы.

*Работа выполнена в рамках Комплексной программы фундаментальных исследований УрО РАН «Расшифровка механизмов иммунологической регуляции физиологических функций, разработка на их основе клеточных технологий и отбор кандидатов для новых лекарственных препаратов для лечения социально значимых заболеваний» (№ Гос. регистрации АААА-А18-118020590109-4).*



## Список литературы/References

1. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. Учебник для вузов. М.: Медицинское информационное агентство, 2005. 734 с. [Borisov L.B. Medical microbiology, virology, immunology. Textbook for high schools. Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo, 2005. 734 p. (In Russ.)]
2. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2015. № 4. С. 4–9. [Bukharin O.V. Infectious symbiology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2015, no. 4, pp. 4–9. (In Russ.)]
3. Вавилова Т.П., Янушевич О.О., Островская И.Г. Слюна. Аналитические возможности и перспективы. М.: Бином, 2014. 312 с. [Vavilova T.P., Yanushevich O.O., Ostrovskaya I.G. Saliva. Analytical opportunities and prospects. Moscow: Binom, 2014. 312 p. (In Russ.)]
4. Гриценко В.А., Аминин Д.Л., Зурочка А.В., Зурочка В.А., Иванов Ю.Б. Некоторые биологические эффекты иммуномодуляторов естественного и синтетического происхождения in vitro как основа создания новых лекарственных средств для борьбы с эндогенными инфекциями // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2012. № 3. С. 1–17. [Gritsenko V.A., Aminin D.L., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Ivanov Yu.B. Some biological effects of immunomodulators of natural and synthetic origin in vitro as a basis for the development of new drugs to combat endogenous infections. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences*, 2012, no. 3, pp. 1–17. (In Russ.)]
5. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 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 immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2009, no. 4, pp. 66–71. (In Russ.)]
6. 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. [Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Gritsenko V.A. Comparative analysis of the effect of synthetic peptide of the active site granulocyte-macrophage colony-stimulating factor — ZP2 on the growth of the museum of cultures of bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Escherichia* in vitro. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences*, 2015, no. 2, pp. 1–10. (In Russ.)]
7. 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. 1–20. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Tyapayeva Ya.V., Belozertseva Yu.P., Gritsenko V.A. Evaluation of the effect of the 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, Ural Branch, Russian Academy of Sciences*, 2018, no. 4, pp. 1–20. doi: 10.24411/2304-9081-2018-14011 (In Russ.)]
8. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.В., 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., Tyapayeva Ya.V., Belozertseva Yu.V., Mrugova T.M., Gritsenko V.A. Antibacterial activity of Acegram cosmetic against gram-negative bacteria. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences*, 2017, no. 4, pp. 1–13. (In Russ.)]
9. 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., Tyapayeva Ya.V., Belozertseva Yu.P. Analysis of the sensitivity of clinical isolates of staphylococci to a synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal = Russian Immunological Journal*, 2015, vol. 9 (18), no. 3 (1), pp. 82–85. (In Russ.)]
10. Зурочка А.В., Суховой Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г., Аргунова Е.Г., Субботин А.М., Колобов А.А., Симбирцев А.С. Антибактериальные свойства синтетических пептидов активного центра GM-CSF // Цитокины и воспаление. 2010. Т. 9, № 4. С. 32–34. [Zurochka A.V., Sukhovey Yu.G., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Petrov S.A., Unger I.G., Kostolomova E.G., Argunova E.G., Subbotin A.M., Kolobov A.A., Simbirtsev A.S. Antibacterial properties of synthetic peptides of the active site of GM-CSF. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2010, vol. 9, no. 4, pp. 32–34. (In Russ.)]
11. Иммунология: структура и функции иммунной системы / Под ред. Р.М. Хайтова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 280 с. [Immunology: structure and functions of the immune system. Ed. R.M. Khaitov. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 280 p. (In Russ.)]
12. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometrics. Moscow: Higher school, 1990. 352 p. (In Russ.)]
13. Медицинские лабораторные технологии: Справочник; в 2 т. / Под ред. А.И. Карпищенко. 2-е изд., перераб. и доп. СПб.: Интермедика, 1999. Т. 2. 653 с. [Medical laboratory technologies: a handbook: (in 2 vol.). Ed. A.I. Karpishchenko. 2<sup>nd</sup> ed., revised and supplemented]. St. Petersburg: Intermedika, 1999. Vol. 2. 653 p. (In Russ.)]
14. Ронь Г.И., Еловицова Т.М. Инновационные технологии в диагностике и лечении воспалительных заболеваний пародонта. Екатеринбург: УГМА, 2011. 276 с. [Rohn G.I., Elovikova T.M. Innovative technologies in the diagnosis and treatment of inflammatory periodontal diseases. Yekaterinburg: UGMA, 2011. 276 p. (In Russ.)]

15. Слесарев В.И. Химия: Основы химии живого: учебник для вузов. СПб.: Химиздат, 2017. 784 с. [Slesarev V.I. Chemistry: Fundamentals of living chemistry. Textbook for universities. St. Petersburg: Khimizdat, 2017. 784 p. (In Russ.)]
16. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013. 384 с. [Trukhacheva N.V. Mathematical statistics in biomedical research using Statistica package. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 384 p. (In Russ.)]
17. Улитовский С.Б. Гигиена полости рта в пародонтологии. Медицинская книга, 2006. 268 с. Ulitovskii S.B. [Oral hygiene in periodontics. St. Petersburg: Medical book, 2006, 268 p. (In Russ.)]
18. Янушевич О.О., Максимовский Ю.М., Максимовская Л.Н., Орехова Л.Ю. Терапевтическая стоматология. Учебник для вузов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 760 с. [Yanushevich O.O., Maksimovsky Yu.M., Maksimovskaja L.N., Orehova L.Ju. Therapeutic dentistry. Textbook for universities. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 760 p. (In Russ.)]
19. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., Beachey E.H. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J. Clin. Microbiol.*, 1985, no. 22, pp. 996–1006.
20. Izano E.A., Izano E.A., Amarante M.A., Kher W.B., Kaplan J.B. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, no. 74 (2), pp. 470–476. doi: 10.1128/AEM.02073-07
21. Mack D., Becker P., Chatterjee I., Dobinsky S., Knobloch J.K., Peters G., Rohde H., Herrmann M. Mechanisms of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*: functional molecules, regulatory circuits, and adaptive responses. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2004, no. 294, pp. 203–212. doi: 10.1016/j.ijmm.2004.06.015
22. Murphy J.M., Young I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. *Vitam. Horm.*, 2006, no. 74, pp. 1–30. doi: 10.1016/S0083-6729(06)74001-8
23. O’Gara J.P. ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, no. 270 (2), pp. 179–188. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00688.x
24. O’Neill E., Pozzi C., Houston P., Smyth D., Humphreys H., Ashley Robinson D., O’Gara J.P. Association between methicillin susceptibility and biofilm regulation in *Staphylococcus aureus* isolates from device-related. *J. Clin. Microbiol.*, 2007, no. 45 (5), pp. 1379–1388. doi: 10.1128/JCM.02280-06
25. O’Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann. Rev. Microbiol.*, 2000, no. 54, pp. 49–79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49
26. Stepanović S., Vuković D., Hola V., Di Bonaventura G., Djukić S., Cirković I., Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 2007, no. 115, pp. 891–899.

**Авторы:**

**Саркисян Н.Г.**, д.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии и преподаватель стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Екатеринбург, Россия; профессор отдела аспирантуры Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;

**Катаева Н.Н.**, к.х.н., доцент кафедры общей химии ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Екатеринбург, Россия;

**Тузанкина И.А.**, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;

**Меликян С.Г.**, студентка 3 курса стоматологического факультета ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Екатеринбург, Россия;

**Зурочка В.А.**, д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия;

**Зурочка А.В.**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск.

**Authors:**

**Sarkisian N.G.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Therapeutic Dentistry and Propaedeutics of Dental Diseases, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation; Professor of Postgraduate Studies, Institute of Immunology and Physiology Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

**Kataeva N.N.**, PhD (Chemistry), Associate Professor, Department of General Chemistry, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;

**Tuzankina I.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Worker of Science, Head Researcher, Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

**Melikyan S.G.**, 3<sup>rd</sup> Year Student, Faculty of Dentistry, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;

**Zurochka V.A.**, PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation; Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation;

**Zurochka A.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Institute of Immunology and Physiology Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation; Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation.