

**MICROBIOLOGIA ȘI BIOTEHNOLOGIA****INFLUENȚA UNOR COMPUȘI CHIMICI NOI ASUPRA  
PROCESELOR ENZIMATICE LA *ESCHERICHIA COLI* ȘI  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS*****Zariciuc Elena***Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "N.Testemițanu"***Rezumat**

În articol sunt prezentate rezultatele testării in vitro a acțiunii unor compuși noi asupra activității proteazelor extracelulare și enzimelor antioxidante catalaza și superoxid dismutaza extra- și intracelulare la *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™, precum și a enzimelor antioxidante la *Escherichia coli* ATCC®25923™.

Concentrațiile minime de inhibiție ale enotaninei solubile și compușilor chimici noi, care conțin segmentul tiosemicarbazonic se manifestă ca inhibitori puternici ai activității factorilor de patogenitate intra- și extracelulari la ambele tulpini studiate. Concentrațiile mai joase decât cele minime de inhibiție pot induce atât sporirea, cât și scăderea activității enzimatică la *Escherichia coli* ATCC®25923™ și *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™. Cel mai eficient inhibitor al activității enzimatică la acele două tulpini dintre cei studiați este cloro-{N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(2-hidroxifenil)etiliden]-hidrazincarbonio -amido(1-)} nichelul, care în concentrație de 0,4 μg/ml elimină complet activitatea catalazei extracelulare și o inhibă cu peste 70% pe cea a catalazei intracelulare.

*Cuvinte cheie:* enotantină solubilă, derivați ai tiosemicarbazonei, inhibarea activității enzimatică, protează, catalază, superoxid dismutază

*Depus la redacție* 26 decembrie 2018

-----  
*Adresa pentru corespondență:* Zariciuc Elena, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "N.Testemițanu", str. N.Testemițanu 26/2, Bloc didactic nr.6, Chișinău, Republica Moldova; e-mail: erusnac@yahoo.com

**Introducere**

*Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli* sunt doi patogeni care prezintă cauză principală a bacteremiei comunitare dobândite și celei spitalicești. *Staphylococcus aureus* este agentul patogen cel mai frecvent izolat din infecțiile pielii umane și este principala cauză a infecțiilor nosocomiale la nivelul plăgilor. Bacterimia cu *Staphylococcus aureus* poate afecta practic a orice parte a corpului și de cele mai multe ori este asociată cu anumite complicații. Aceste complicații pot duce la maladii severe, având ca rezultat o morbiditate și o mortalitate semnificativă. Complicațiile bacteremiei stafilococice sunt frecvente, apărând la rate care variază de la 11% la 53%. Unele dintre ele necesită adesea aplicarea terapiilor intensive și sunt asociate cu un prognostic pesimist, în special din cauza dificultăți de a obține un diagnostic corect în timp util [5, 11, 21].

*Escherichia coli* este una dintre cele mai frecvente cauze ale multor infecții bacteriene, cum ar fi colecistita, colangita, infecțiile căilor urinare, diareea călătorului și alte infecții clinice, cum ar fi meningita neonatală și pneumonia [4, 5].

Formele patogene extraintestinale de *Escherichia coli* sunt o cauză frecventă a bacteriemiei și sepsisului, iar gradul de severitate a acestora sunt determinate atât de calea de pătrundere a patogenului, cât și de vârsta persoanelor afectate [13].

Ambii agenți patogeni posedă un arsenal bogat de factori de virulență, principalii fiind toxinele și sistemul enzimatic extra și intracelular. Datorită acestor factori de virulență patogenii, în special formele lor rezistente la acțiunea antibioticelor, evită acțiunea sistemului imunitar al gazdei, conducând la infecții recurente / cronice, inflamație de lungă durată și vindecare întârziată. Infecțiile inițial ușoare se pot dezvolta în infecții invazive care în cele din urmă duc la septicemie.

Printre factorii de virulență produși de *Staphylococcus aureus* sunt toxinele, factorii imunomodulatori și exoenzimele (proteaze, lipaze, nucleaze, catalaza, superoxid dismutaza, coagulaza, betalactamaza ș.a.). Rezultatele investigațiilor realizate atât in vitro, cât și in vivo indică faptul că *S. aureus* exprimă factori de virulență ca o adaptare la mediul gazdă [16]. Enzimele fac izolatele specifice de *Staphylococcus aureus* mai patogene și dau naștere unui spectru variat de maladii variind de la infecții minore până la cele mortale [18]. Penetrarea patogenilor prin barierele naturale ale corpului și prin mucoase este asigurată de enzimele care distrug componentele structurale de bază ale acestora, în special proteinele și lipidele, proces realizat de enzimele proteolitice și lipolitice secretate [14, 15].

Proteazele produse de patogeni acționează pentru a furniza substanțe nutritive și a facilita răspândirea bacteriilor prin degradarea nespecifică a țesutului gazdă și a proteinelor bacterile de suprafață, dar posedă, de asemenea și funcții mai specifice. Astfel proteazele extracelulare produse de *S. aureus* asigură protecția împotriva sistemului imunitar înăscut, atât la nivelul celular, cât și la cel de organe, sisteme de organe și organism, ceea ce, la rândul său, are un impact puternic asupra progresiei infecțiilor stafilococice localizate și sistemice. De asemenea, ele joacă un rol important în determinarea cantității proteinelor de suprafață și procesarea factorilor secretați [19]. Proteazele se pare a fi responsabile de inactivarea complementului uman, care este una dintre primele linii de apărare împotriva agenților patogeni bacterieni, iar *S. aureus* și *E. coli* expresează mai mulți inhibitori specifici ai complementului, iar proteazele extracelulare sunt inhibitori puternici ai complementului uman [10].

Unul dintre cele mai eficiente mecanisme de protecție a macroorganismului contra invaziei patogenilor, este procesul de eliminare a speciilor reactive ale oxigenului, care au o funcție bactericidă prin distrugerea ADN-ului, a lipidelor, a proteinelor și a membranei patogenului. Pentru a supraviețui, a se replica și disemina în tot corpul, agenții patogeni bacterieni trebuie să depășească atacul antimicrobian oxidativ produs de macrofage. Enzimele care distrug speciile reactive ale oxigenului, incluzând catalazele, peroxidazele și superoxid dismutazele, sunt utilizate de majoritatea bacteriilor pentru a supraviețui în condiții de stres oxidativ [20]. Efectele pozitive ale superoxid dismutazei și catalazei în protecția patogenilor contra mecanismelor de protecție ale gazdei pot fi urmărite atât in vitro, cât și in vivo [3].

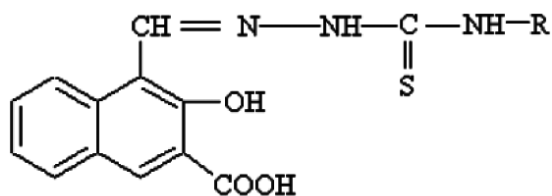
Investigațiile realizate în sisteme in vitro și in vivo au demonstrat, că acțiunea substanțelor cu efect bacteriostatic și bactericid produc fluctuații foarte semnificative ale nivelului de sinteză și eliminare a enzimelor antioxidante de către patogeni. Astfel, sub acțiunea nanofierului zero-valent la *Escherichia coli* are loc dereglarea

producerii atât a tuturor formelor de superoxid dismutază, cât și a celor de catalază [4]. Sub influența 2- (2-nitrovinil) furanului a fost observată o creștere semnificativă a activității superoxid dismutazei și a catalazei la *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Staphylococcus aureus* [2].

Anterior a fost demonstrată acțiunea antibacteriană a unor compuși chimici noi autohtoni asupra mai multor tulpini de microorganisme patogene, dar nu a fost explicat mecanismul de acțiune a acestora [7, 8, 9, 12, 22, 23]. În scopul evidențierii unor efecte ale compușilor noi asupra a doi patogeni *Escherichia coli* și *Staphylococcus aureus* a fost studiată modificarea nivelului de activitate a proteazelor extracelulare și a enzimelor antioxidante produse de microorganisme la acțiunea compușilor cu efect antibacterian.

### Material și metode

Pentru cercetare au fost incluse 5 substanțe cu proprietăți antimicrobiene: enotanina hidrosolubilă, obținut prin oxidarea enotaninei insolubile în apă, extras din semințele de struguri; Metil-N'-[(2-hidroxi-naftalen-1-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazonotioatul; Cloro-{N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(2-hidroxifenil)etiliden]-hidrazincarbonio-amido(1-)} nichel; și doi derivați noi ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic cu formula:



Unde: R=H sau R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.

Substanțele respective au fost adăugate la mediul nutritiv în cantitate de ¼; ½; și 1 CMI. În calitate de microorganisme de referință pentru determinarea modificării activității enzimatică sub acțiune compușilor menționați mai sus au fost utilizate tulpinile: *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ și *Escherichia coli* ATCC®25923™

#### Creșterea culturilor microbiene

Pentru creșterea culturilor bacteriene a fost utilizat mediul standard - bulion peptonat, 2% cu pH ajustat la 7,0. Mediile de cultură se prepară în conformitate cu instrucțiunea producătorului. Pentru inocul este utilizată cultura pură de 24 ore de microorganisme crescute pe medii nutritive solide. Sunt selectate mai multe colonii similare bine izolate. Cu ajutorul ansei se colectează cantități mici din vârful coloniei și se transferă într-un tub cu o soluție izotonică sterilă de clorură de sodiu, astfel ca acesta să corespundă exact standardului de turbiditate de 0,5 după McFarland. Inoculul urmează a fi utilizat în decurs de 15 minute după preparare. Culturile bacteriene sunt incubate la o temperatură de 35°C timp de 24 ore.

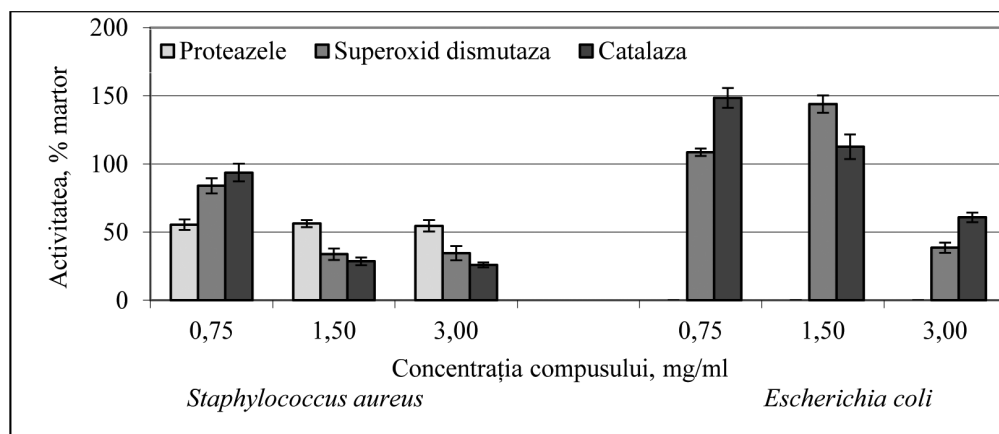
*Obținerea lichidului cultural și a extractului celular.* Celulele se separă de mediul nutritiv prin centrifugare la 6000 g timp de 5 min. Obținerea extratului celular se efectuează din sedimentul celular cu utilizarea bilelor din sticlă conform descrierii prezentate de Saxena S și Gomber C. [17].

Activitatea proteazelor extracelulare a fost determinată prin aplicarea testului de collagenază impregnată cu colorant azolic, după cum au descris Saxena S și Gomber C. [17]. Pentru determinarea catalazei a fost aplicată metoda spectrofotometrică propusă de Abey în 1984 [1]. Determinarea activității superoxid dismutazei (SOD) a fost realizată în baza principiului bazat pe capacitatea enzimei de a inhiba reacțiile fotochimice de reducere a tetrazoliului nitroalbastru în conformitate cu metoda propusă de Giannopolitis și Ries în 1972 [6]

### Rezultate și discuții

Anterior a fost demonstrat, că enotanina hidrosolubilă, obținută din semințe de struguri prin procedeul de solubilizare oxidativă a forme insolubile, are acțiune bacteriostatică față de tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ la o concentrație de 3 mg/ml și acțiune bactericidă, fiind aplicat în concentrație dublă de 6 mg/ml. Aceleași concentrații minime de inhibiție și bactericide au fost stabilite și în raport cu tulpina *Escherichia coli* ATCC®25923™. Pentru a evidenția efectele acestei substanțe asupra proceselor enzimaticice la cele două tulpini de microorganisme patogene au fost aplicate concentrații mai mici și egale cu concentrația minimă de inhibiție: 0,75 mg/ml; 1,50 mg/ml și 3 mg/ml, astfel, ca culturile microbiene să rămână viabile pe durata acțiunii compusului antimicrobian. Durata contactului culturii bacteriene cu enotanina hidrosolubilă a fost de 24 ore, după care biomasa a fost colectată, iar testele enzimaticice au fost efectuate atât în lichidul cultural, cât și în extractele celulare obținute.

Activitatea exoenzimelor depistată în lichidul cultural obținut după incubarea culturilor de *S.aureus* și *E.coli* cu enotanină hidrosolubilă, comparativ cu culturile crescute pe mediu standard sunt prezentate în figura 1.



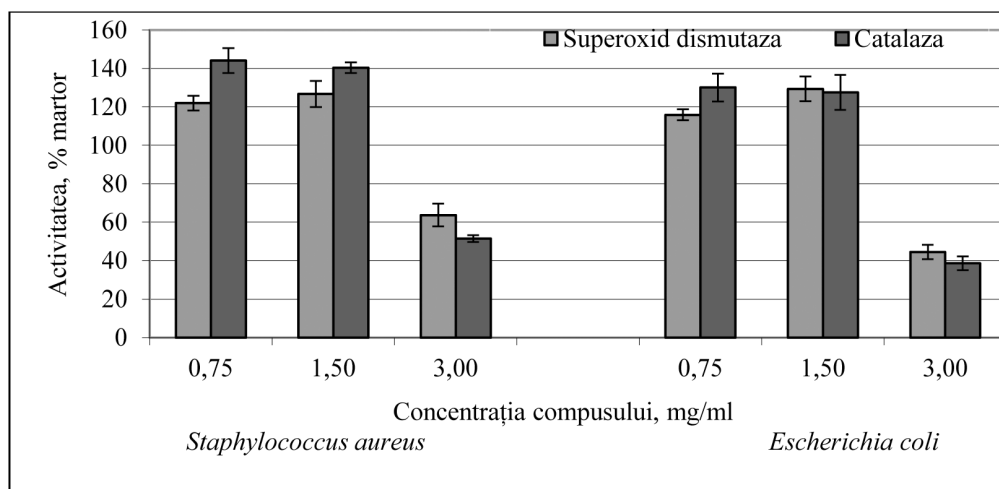
**Fig.1. Modificarea activității exoenzimelor la *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ și *Escherichia coli* ATCC®25923™ la interacțiunea culturilor cu enotanina hidrosolubilă.**

Ambele culturi microbiene se caracterizează prin activitate pronunțată a enzimelor antioxidante catalaza și superoxid dismutaza în mediul extracelular. La stafiloc de asemenea se mai atestă și o activitate proteolitică. Aceasta din urmă scade semnificativ (cu peste 45% față de martor) la toate concentrațiile de enotanină aplicate. Diferență semnificativă între variantele cu diferite concentrații nu au fost depistate. Activitatea enzimelor antioxidante exocelulare de asemenea scade în mediul cultural la

*Staphylococcus aureus* ATCC®25922™. Această scădere este doză-dependentă și este mai pronunțată la concentrațiile de 1,5 și 3,0 mg/ml compus antibacterian.

În cazul tulpinii *Escherichia coli* ATCC®25923™ rezultatele obținute diferă. Astfel, la adăugarea enotaninei se atestă o creștere semnificativă a activității catalazei (la concentrația de 0,75 mg/ml) și a superoxid dismutazei (la concentrația de 1,50 mg/ml). În schimb concentrația d3 3 mg/ml, care a fost stabilită ca fiind minim inhibitorie, duce la o scădere de peste 2 ori a activității superoxid dismutazei și de aproape 2 ori a catalazei.

Activitatea enzimelor antioxidante intracelulare de asemenea se modifică la interacțiunea culturilor microbiene cu enotanina hidrosolubilă. Rezultatele obținute sunt prezentate în figura 2.



**Fig.2. Modificarea activității endoenzimelor antioxidante la *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ și *Escherichia coli* ATCC®25923™ la interacțiunea culturilor cu enotanină hidrosolubilă.**

După cum se poate vedea din figura doi, concentrațiile mai joase decât cea minim inhibitorie duce la creștere semnificativă a activității catalazei și superoxid dismutazei, în timp ce concentrația înaltă de enotanină (3,0 mg/ml) a provocat o scădere pronunțată a activității enzimelor antioxidante în interiorul celulelor bacteriene.

Astfel, am observat, că enotanina are acțiune similară asupra activității enzimelor antioxidante intracelulare în cazul ambelor culturi microbiene studiate. La concentrații mai joase decât cea minimă de inhibiție are loc o creștere a activității acestor enzime, iar la concentrația stabilită ca fiind minimă de inhibiție (3 mg/ml) are loc o inhibare puternică a activității enzimatice antioxidante, ceea ce poate fi una din explicațiile dereglării mecanismelor de protecție a culturii bacteriene și inhibării procesului de creștere a culturii.

Cercetările realizate anterior au permis evidențierea unor compuși chimici noi, care conțin segmentul tiosemicarbazonic, cu efect antimicrobian pronunțat asupra tulpinii gram+ *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™. Doi dintre acești compuși, și anume derivați noi ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2- naftoic cu formulele  $C_{13}H_{11}N_3SO_3$  •  $CH_3OH$  și  $C_{19}H_{15}N_3O_3S$ , au fost testați în vederea stabilirii acțiunii lor asupra activității enzimatice la această tulpină. Concentrația minimă de inhibiție a primului

compus față de tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ a fost de 2,5 mg/ml, iar concentrațiile utilizate în cercetarea actuală au fost de 0,60; 1,25 și 2,5 mg/ml. Cel de-al doilea compus are un efect antibacterian mai pronunțat, concentrația minimă de inhibiție fiind de 0,6 mg/ml, iar concentrațiile aplicate au fost de 0,15; 0,3 și 0,6 mg/ml. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 1.

**Tabelul 1. Activitatea enzimatică a *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ la interacțiunea culturii cu derivați noi ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2- naftoic, % față de martor (cultura netratată).**

Enzumele	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> • CH <sub>3</sub> OH, mg/ml			C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S, mg/ml		
	0,60	1,25	2,50	0,15	0,30	0,60
<b>Activitatea exoenzimelor, %M</b>						
<b>Proteaze</b>	84,6±3,4	32,4±1,7	-	16,8±2,5	0	0
<b>Superoxid dismutaza</b>	62,8±2,6	54,6±2,4	46,5±4,2	43,2±2,8	22,8±0,9	6,3±1,1
<b>Catalaza</b>	36,8±0,5	21,4±3,2	20,9±2,3	45,8±3,4	12,5±3,1	0
<b>Activitatea endoenzimelor, %M</b>						
<b>Superoxid dismutaza</b>	124,4±4,2	86,1±2,6	38,3±3,5	74,6±2,2	46,8±2,8	22,5±2,1
<b>Catalaza</b>	146,0±2,9	92,8±1,4	50,8±0,8	60,4±3,0	39,5±0,6	12,8±1,8

Efectul compușilor testați asupra activității exoenzimelor eliberate de cultura de *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ a fost negativ în toate variantele experienței. Prezența compușilor chimici noi duce la inactivarea completă a proteazelor la concentrațiile egale cu concentrația minimă de inhibiție sau chiar mai mici în cazul compusului C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S. Activitatea enzimelor antioxidante în mediul extracelular a fost diminuat în toate cazurile, iar la concentrația de 0,6 mg/ml a compusului C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, aceasta practic dispare.

Activitatea superoxid dismutazei și catalazei intracelulare la *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™ a fost diferită în dependență de compus și concentrația acestuia. Astfel, la concentrația de 0,6 mg/ml a compusului C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>SO<sub>3</sub> activitatea enzimelor crește iar la concentrații mai înalte – descrește simțitor. La concentrațiile egale cu CMI activitatea exozimelor antioxidante scade de 2-7 ori.

Față de tulpina *Escherichia coli* ATCC®25923™ a fost testată acțiunea a patru compuși chimici noi cu formulele: C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>SO<sub>3</sub> • CH<sub>3</sub>OH, C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>OS și C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>NiOS (tab. 2). Primul compus în concentrație de 1,2 mg/ml inhibă creșterea microorganismului, iar activitatea catalazei și superoxid dismutazei, atât intracelulare, cât și extracelulare la aplicarea acestei cantități de compus este inhibată cu 40-73% față de cultura ce crește în condiții standard. Concentrația de 0,3 mg/ml practic nu modifică activitatea enzimelor antioxidante, iar concentrația de 0,6 mg/ml are efecte nocive asupra activității enzimelor extracelulare, pe când activitatea enzimelor intracelulare nu se modifică, ori se modifică foarte puțin. Cel de-al doilea compus cu formula C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S în cea mai înaltă concentrație aplicată de 2,5 mg/ml inhibă activitatea catalazei și superoxid dismutazei cu până la 61 % față de martor, iar concentrațiile mai mici (0,6 și 1,25 mg/ml) au un efect mai slab de inhibiție, iar în cazul enzimelor secretate în mediul extracelular au chiar efect de stimulare (cu până la 38% în cazul superoxid dismutazei) a activității enzimaticice. Compușii C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>OS



și  $C_{17}H_{18}ClN_3NiOS$  au o acțiune de inhibiție foarte pronunțată. Astfel, aplicarea concentrațiilor minime de inhibiție (0,5 mg/ml de  $C_{16}H_{17}N_3OS$  și 1,5  $\mu\text{g/ml}$  de  $C_{17}H_{18}ClN_3NiOS$ ) duc la inhibarea completă a activității enzimatică antioxidantă atât în interiorul, cât și în exteriorul celulelor de *Escherichia coli* ATCC®25923™. Cel mai serios este afectată activitatea catalazei, care este complet suprimată în mediul extracelular și puternic redusă la concentrațiile mai mici în mediul intracelular.

**Tabelul 2. Activitatea enzimatică a *Escherichia coli* ATCC®25923™ la interacțiune cu compuși chimici noi, ce conțin segmentul tiosemicarbazonic, % față de martor (cultura netratată).**

Compusul, concentrația	Activitatea exoenzimelor, %M		Activitatea endoenzimelor, %M	
	Catalaza	Suproxid dismutaza	Catalaza	Suproxid dismutaza
<b><math>C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH</math>, mg/ml</b>				
0,3	104,8±5,2	98,5±2,6	99,6±2,9	102,3±3,5
0,6	76,8±1,8	52,6±4,1	89,4±4,1	94,2±4,2
1,2	26,8±2,4	35,4±2,3	59,6±2,0	40,3±1,0
<b><math>C_{19}H_{15}N_3O_3S</math>, mg/ml</b>				
0,60	84,2±3,8	90,4±	112,5±	138,1±
1,25	72,1±3,8	85,2±	111,6±	97,4±
2,50	52,6±1,3	44,9	67,5±	38,4±
<b><math>C_{16}H_{17}N_3OS</math>, mg/ml</b>				
0,12	32,5±2,7	25,1±2,4	45,3±1,6	24,8±2,0
0,25	0	0	0	15,7±2,3
0,50	0	0	0	0
<b><math>C_{17}H_{18}ClN_3NiOS</math>, <math>\mu\text{g/ml}</math></b>				
0,4	0	52,6±3,6	27,3±0,6	62,5±2,4
0,8	0	27,2±3,3	7,9±1,1	44,2±3,2
1,5	0	0	0	0

Activitatea superoxid dismutazei de asemenea este suprimată complet la concentrația de 0,25 și 0,50 mg/ml de compus  $C_{16}H_{17}N_3OS$  în mediul extracelular și la concentrația de 0,5 mg/ml în celule. Compusul cu formula  $C_{17}H_{18}ClN_3NiOS$  aplicat în concentrații de 1000 ori mai joasă ca ceilalți compuși duce la inhibare completă a catalazei extracelulare și cu până la peste 90% a catalazei intracelulare. La concentrația de 1,5  $\mu\text{g/ml}$  de compus activitatea enzimelor antioxidante este egală cu zero, atât în mediul de cultură, cât și în extractul celular obținut.

Ținând cont de faptul, că proteazele extracelulare și enzimele antioxidante sunt factori de virulență pe care microorganismele *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli* le aplică pentru a se proteja de mecanismele imune ale gazdei afectate și pentru a se propaga în organismul atacat, inhibarea activității lor este o premisă bună pentru succesul în eliminarea acestor patogeni, iar substanțele care posedă o asemenea acțiune sunt de perspectivă pentru cercetările orientate spre elaborarea de noi remedii antimicrobiene.

### Concluzii

Concentrațiile minime de inhibiție a enotaninei solubile și compușilor chimici noi, care conțin segmentul tiosemicarbazonic se manifestă ca inhibitori puternici ai activității factorilor de patogenitate intra- și extracelulari la ambele tulpini studiate.

Concentrațiile mai joase decât cele minime de inhibiție pot induce atât sporirea, cât și scăderea activității enzimatică la de *Escherichia coli* ATCC®25923™ și *Staphylococcus aureus* ATCC®25922™.

Cel mai eficient inhibitor al activității enzimatică la acele două tulpini dintre cei studiați este cloro- $\{N-(3,4\text{-dimetilfenil})-2-[1-(2\text{-hidroxifenil})\text{etiliden}]\text{-hidrazincarbonioamido}(1-)\}$  nichel, care în concentrație de 0,4  $\mu\text{g/ml}$  elimină complet activitatea catalazei extracelulare și o inhibă cu peste 70% pe cea a catalazei intracelulare.

### Bibliografie

1. *Abey H.* Catalase in vitro // *Methods Enzimol.* 1984, v.105, p.121-126.
2. *Ajiboye, T. O., A. M. Naibi, I. O. Abdulazeez, I. O. Alege, A. O. Mohammed, S. A. Bello, I. I. Yusuf, O. B. Ibitoye, and H. F. Muritala.* Involvement of Oxidative Stress in Bactericidal Activity of 2-(2-Nitrovinyl) Furan against *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus* // *Microbial Pathogenesis*, 20116, 91 p.107–14.
3. *Beavers W.N., Skaar E.P.* Neutrophil-Generated Oxidative Stress and Protein Damage in *Staphylococcus Aureus* // *Pathogens and Disease*, 2016, 74 (6). p. ftw060.
4. *Chaithawiwat K., et al.* Role of Oxidative Stress in Inactivation of *Escherichia Coli* BW25113 by Nanoscale Zero-Valent Iron // *Science of the Total Environment*, 2016, 565 p. 857–62.
5. *de Kraker, et al.* Mortality and Hospital Stay Associated with Resistant *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli* Bacteremia: Estimating the Burden of Antibiotic Resistance in Europe // *PLoS Medicine*, 2011, 8 (10). p. e1001104. doi:10.1371/journal.pmed.1001104.
6. *Giannopolitis C.N., Ries S.K.* Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. // *Plant Physiol.* 1972, v.59, p.309-314
7. *Gonciar V., Zariciuc E., Bacinschi N., Lupașcu T., Plugaru Ș., Rudic V., Cerlat S.* Remediul antibacterian. Brevet de invenție MD 3228. 2007.01.31.
8. *Graur V.; Zariciuc E.; Usataia I.; Țapcov V.; Rudic V.; Gulea A.* Metil- $N'-(2\text{-hidroxinaftalen-1-il})\text{metiliden-}N\text{-prop-2-en-1-ilhidrazonotioat}$ , care manifestă activitate antimicrobică față de *Candida albicans*. Brevet de invenție MD 4402. 2016.02.29.
9. *Istrati D., Gulea A., Țapcov V., Zariciuc E., Cotovaia A.* Cloro- $\{N-(3,4\text{-dimetilfenil})-2-[1-(2\text{-hidroxifenil})\text{etiliden}]\text{-hidrazincarbonioamido}(1-)\}$  nichel, care manifestă activitate antimicrobiană față de bacteriile din speciile *Klebsiella pneumoniae* și *Pseudomonas aeruginosa*. Brevet de invenție MD 4462. 2017.01.31
10. *Jusko M., et al.* Staphylococcal Proteases Aid in Evasion of the Human Complement System // *Journal of Innate Immunit*, 2014, 6 (1). p. 31–46.
11. *Keynan Y.oav, and Rubinstein E.* Staphylococcus Aureus Bacteremia, Risk Factors, Complications, and Managemen // *Critical Care Clinics*, 2013, doi:10.1016/j.ccc.2013.03.008.
12. *Lăzărescu A., Zariciuc E., Cojocari D., Gonciar V., Bouoș P., Turtă C.* Derivați tiosemicarbazonici ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic cu proprietăți antibacteriene. Brevet de invenție MD 4174. 2012.06.30
13. *Mora-Rillo M. et al.* Impact of Virulence Genes on Sepsis Severity and Survival in *Escherichia Coli* Bacteremia // *Virulence*, 2015, 6 (1). p. 93–100.
14. *Nakatsuji T.* Staphylococcus Aureus Exploits Epidermal Barrier Defects in Atopic Dermatitis to Trigger Cytokine Expression. // *Journal of Investigative Dermatology*, 2016, 136 (11). p. 2192–2200..



15. Nguyen M.T. et al. Staphylococcal (Phospho)Lipases Promote Biofilm Formation and Host Cell Invasion. // *International Journal of Medical Microbiology*, 2018, 308 (6). p. 653–63.
16. Oogai Y. et al. Expression of Virulence Factors by Staphylococcus Aureus Grown in Serum // *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77 (22). p. 8097–8105.
17. Saxena S., Gomber Ch. Superoxide dismutase, protease and lipase expression in clinical isolates of Staphylococcus aureus: a tool for antimicrobial drug discovery. // *Mol Cell Biochem*. 2010. v. 341, p.217–223
18. Siddiqui, Yusra. Phenotypic Assessment of Exoenzyme Activity by Clinical Isolates of Staphylococcus Aureus // *RADS Journal of Biological Research & Applied Sciences*, 2015, 6 (1). p. 13–16..
19. Stach N. et al. Extracellular Proteases of Staphylococcus Spp // In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*, 2018, p.135–45.
20. Wan B. et al. Type VI Secretion System Contributes to Enterohemorrhagic Escherichia Coli Virulence by Secreting Catalase against Host Reactive Oxygen Species (ROS). // *PLoS Pathogens*, 2018, 13 (3)., p. e1006246.
21. Yilmaz M. et al. Mortality Predictors of Staphylococcus Aureus Bacteremia: A Prospective Multicenter Study // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2016, 15 (1). doi:10.1186/s12941-016-0122-8.
22. Zariciuc E. Activitatea antimicrobiană *in vitro* a unor compuși autohtoni noi. // Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2017, nr. 2(332), p.146-153.
23. Zariciuc E., Savina-Grosu A., Rudic V., Muset Gh., Lupascu L., Plugaru Ș., Calancea, A. Studiul activității antibacteriene și antifungice a Enoxilului. În: *Produse vinicole secundare/ In redacția acad. Gheorghe Duca. Chișinău: „Știința”, 2011, p. 178-184.*