

моглобина в эритроцитах и площади клеток на 7,9% и 10,4% соответственно по отношению к контролю. Отмечается сильная прямая корреляционная связь между площадью эритроцитов и содержанием в них гемоглобина ($r = 0,86$; $p < 0,05$). Соотношение интенсивностей I_{1355}/I_{1550} , отражающее относительную способность всего гемоглобина в пробе связывать лиганды (в т. ч. кислород), и соотношение I_{1375}/I_{1580} , отражающее относительную способность Гб выделять лиганды, увеличиваются на 9,0% и в 1,95 раза соответственно. Наблюдается сильная отрицательная корреляционная связь между способностью гемоглобина выделять лиганды и сродством гемоглобина к лигандам, в первую очередь к кислороду ($r = -0,9$; $p < 0,05$). Имеется сильная отрицательная корреляционная связь способности гемоглобина связывать лиганды (в т. ч. кислород) с содержанием гемоглобина в эритроцитах ($r = -0,74$; $p < 0,05$) и с площадью клеток ($r = -0,86$; $p < 0,05$). Отношение интенсивностей $(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$, отражающее сродство гемоглобина к лигандам, в первую очередь к кислороду, снижается на 44,7%. Имеется сильная обратная корреляционная связь между относительным количеством оксигемоглобина и сродством гемоглобина к лигандам, в первую очередь к кислороду ($r = -0,64$; $p < 0,05$).

Таким образом, при инкубации крови с коллоидным раствором наносеребра в течение 60 мин наблюдаются изменения в конформации гемопорфирина гемоглобина эритроцитов, которые проявляются в снижении способности связывать лиганды и сродстве гемоглобина к кислороду. При инкубации крови с НЧС в течение трех часов наблюдается сильное повышение способности гемопорфирина гемоглобина выделять лиганды на фоне снижения сродства гемоглобина к лигандам, в том числе к кислороду.

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ
АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЯ
1,5-ДИ-(М-НИТРОФЕНИЛ)-3-
СЕЛЕНАПЕНТАНДИОН-1,5
НА КЛИНИЧЕСКИЕ ШТАММЫ
ESCHERICHIA COLI**

Русецкая Н.Ю., Бородулин В.Б.

*ГБОУ ВПО «Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
Минздрава России», Саратов,
e-mail: ruseckayanu@yandex.ru*

Повсеместно увеличивается число инфекций, вызванных патогенными резистентными бактериями. Низкая активность лекарственных препаратов к грамотрицательным бактериям обусловлена развитием лекарственной устойчивости к синтетическим антибиотикам или препаратам, полученным из лекарственных растений. В течение 60 лет в медицинской практике и ветеринарии для лечения бактериальных

и некоторых протозойных инфекций применяются препараты – производные 5-нитрофурана. Нитрогруппа имеет существенное значение для проявления антимикробных свойств ряда химических соединений (нитрофуранов, нитроимидазолов и хлорамфеникола) [1]. Вместе с тем перспективными антибактериальными препаратами являются производные селеноорганического препарата ДАФС-25, применяемого в животноводстве и птицеводстве ряда регионов России [2,3].

В связи с этим целью работы явилось изучение антимикробной активности соединения 1,5-ди-(м-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 (нитропроизводного препарата ДАФС-25) на клинические штаммы кишечной палочки.

Материалы и методы. В эксперименте использовали соединение 1,5-ди-(м-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5, любезно предоставленное профессором, д.х.н. Б.И. Древко. Эксперимент проводили на 10 токсологически идентичных клинических штаммах *Escherichia coli*, выделенных от больных с гнойными осложнениями, находящимися на лечении в травматолого-ортопедическом стационаре Саратовского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии (СарНИИТО) и обладающих резистентностью к пяти- и более профильным антибиотикам. Суспензию бактерий готовили по стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича, путем последовательных разведений до конечной концентрации бактерий – $3 \cdot 10^5$ клеток в 1 мл. Для изучения антибактериального действия готовили 4 разведения селеноорганического соединения в концентрациях 0,001-1 мг/мл. В качестве растворителя использовали смесь диметилформамида (ДМФА) в 0,9% растворе NaCl в отношении 1:10. В пробирки с разведениями препарата добавляли по 100 мкл конечной суспензии микроорганизмов и инкубировали в течение 30, 60, 90, 120, 150 мин при комнатной температуре. В качестве контроля использовали такие же количества бактериальной взвеси, разведенные в аналогичных пропорциях с контролем (ДМФА в 0,9% растворе NaCl), а также выдержанные в течение тех же промежутков времени. После этого бактериальные взвеси из каждой пробирки в количестве 100 мкл высевали на чашки Петри с твердой питательной средой (мясо-пептонный агар), которые затем помещали в термостат на 24 часа при 37°C. Подсчет колоний производили на следующий день.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи пакета программ Statistica 6.0. Проверяли гипотезы о виде распределений (критерий Шапиро-Уилкса). Большинство данных не соответствуют закону нормального распределения, поэтому для сравнения значений использовался U-критерий Манна-Уитни, на основании которого рассчиты-

вался Z – критерий Фишера и показатель достоверности p. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0.05.

Результаты и их обсуждение. Соединение 1,5-ди-(м-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 в концентрациях 0,01-1 мг/мл достоверно подавляло рост клинических штаммов *Escherichia coli* (*E.coli*). В концентрации 0,01 мг/мл этот препарат снижал рост клеточных колоний на 39,5% (30 минут), 50,05% (60 минут), 64,82% (90 минут), 79,39% (120 минут) и на 96,38% (150 минут) соответственно по сравнению с контролем (p<0,001) (см. таблицу). Более выраженный

антибактериальный эффект исследуемое соединение проявляло в концентрации 0,1 мг/мл. При этом число бактериальных колоний уменьшалось по мере увеличения времени инкубации: на 56,34% (30 минут), 71,58% (60 минут), 85,08% (90 минут), 90,87% (120 минут) и на 92,53% при инкубации 150 минут по сравнению с контролем (p<0,001).

В максимальной концентрации 1 мг/мл препарат оказывал наибольшее антибактериальное действие. В зависимости от времени инкубации рост бактерий подавлялся на 75,86% (30 минут), 93,2% (60 минут), 95,22 (90 минут) и на 99,56% (120 минут) (p<0,001) соответственно.

Антибактериальное действие соединения 1,5-ди-(м-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 на клинические штаммы *E.coli*

		Количество колоний на твердых питательных средах				
		Контроль (ДМФА и физ. р-р)	Опытные группы, концентрация вещества, мг/мл			
			1	0,1	0,01	0,001
Время воздействия, мин	30	1081 (987;1178)	261(185;278) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	472(450;570) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	654(578;843) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	1020(983;1081) Z _к =0.90; p _к =0.364347.
	60	971 (908;1034)	66(34;264) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	276(260;320) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	485(376;773) Z _к =3.17; p _к =0.001499.	980(852;1050) Z _к =0.11; p _к =0.909722.
	90	1046 (848;1155)	50(9;163) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	156(94;224) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	368(241;490) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	977(790;1093) Z _к =1.13; p _к =0.256840.
	120	898 (804;1064)	4(0;10) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	82(10;89) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	185(36;217) Z _к =3.70; p _к =0.000211.	779(632;885) Z _к =1.58; p _к =0.112412.
	150	830 (648;905)	0(0;0) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	62(27;114) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	30(19;128) Z _к =3.77; p _к =0.000157.	615(504;741) Z _к =2.30; p _к =0.021135.

Примечания: в каждом случае приведены средняя величина (медиана – Me), нижний и верхний квартили (25%;75%). Z_к, p_к – различия по сравнению с группой контроля.

При инкубации 150 минут роста бактериальных колоний не наблюдалось (p<0,001). Во всех перечисленных случаях число бактериальных клеток уменьшалось прямо пропорционально увеличению концентрации препарата и увеличению времени инкубации. В низкой концентрации 0,001 мг/мл селеноорганическое соединение достоверно, но незначительно (на 25,9%) подавляло рост колоний кишечной палочки лишь при максимальной инкубации 150 минут. Сокращение времени инкубации (до 120 минут и менее) не приводило к достоверному изменению числа бактериальных колоний по сравнению с контролем (см. таблицу).

Таким образом, исследованное нами соединение 1,5-ди-(м-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 значительно подавляло рост колоний

клинических штаммов кишечной палочки в концентрациях 10-1000 мкг/мл. Особый интерес представляет наличие в структуре препарата 2 двух нитрогрупп, что позволяет проводить аналогию с антибактериальным действием нитрофуранов. Известно, что сами по себе нитрофураны антибактериальной активностью не обладают, но приобретают ее при восстановлении флавинозависимыми редуктазами, т.е. для проявления как терапевтического, так и побочного действия нитрофуранов необходимо их одноэлектронное восстановление ферментами с нитроредуктазной активностью, локализованными в микробах, простейших или тканях организма. Промежуточные продукты последовательных одно- или двухэлектронных этапов восстановления являются высоко реакционноспособны-

ми, особенно анион нитрорадикала, благодаря которому нитрофураны приобретают антибактериальную активность [4].

В связи с этим, можно предположить, что, антибактериальная активность соединения 1,5-ди-(*m*-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 обусловлена наличием в его структуре двух нитрогрупп, которые, подвергаясь действию бактериальных ферментов, проявляют свою цитотоксическую активность в отношении клинических штаммов *Escherichia coli*.

Вывод. Полученные данные позволяют предполагать перспективность использования соединения 1,5-ди-(*m*-нитрофенил)-3-селенапентандион-1,5 как антибактериального средства в отношении антибиотикорезистентных штаммов.

Список литературы

1. Левшин И.Б. Новые направления в поиске анти-микробных средств в ряду производных тиазолидин-4-она и 4-хинолон-3-карбоновой кислоты. Дисс. (научный доклад)... докт. фарм. наук. М., 1999. 25 с.
2. Русецкая Н.Ю., Бородулин В.Б., Коннова С.А., Бабушкина И.В. Вайнер Г.Б. Сравнительная характеристика антибактериальной активности селеноорганических препаратов на клинические штаммы золотистого стафилококка // Известия Саратовского университета. Новая серия. Химия. Биология. Экология. Выпуск 1. 2011. – Том 11. – С. 62-66.
3. Русецкая Н.Ю., Горошинская И.А., Бородулин В.Б., Димидов Д.П., Бородулин Я.В. Антибактериальная активность селеноорганического соединения диацетофенонилселенид и его хлорпроизводного на клинические штаммы синегнойной палочки // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2012. № 4. С. 69-72.
4. Глыбочко П.В., Свистунов А.А. Бородулин В.Б., Русецкая Н.Ю. Нитрофураны: химическое строение и биологическая активность. Саратов: Издательство Саратовского медицинского университета, 2010 – 199 с.

ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА НА АДГЕЗИВНУЮ АКТИВНОСТЬ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ РАН

Хренов П.А., Честнова Т.В.

*Тульский государственный
университет, Тула,
e-mail: hrenov.pawel@yandex.ru*

Адгезию можно рассматривать как приспособление индигенной микрофлоры для поддержания колонизационной резистентности, так и фактором патогенности при реализации инфекционного процесса у представителей патогенной флоры. Одним из актуальных направлений современной микробиологии является изучение веществ, блокирующих адгезию микроорганизмов. Во внебольничных условиях *Staphylococcus aureus* является наиболее распространенным возбудителем фурункулеза и инфекций кожи и мягких тканей. Препарат «Димексид» применяется в лечении раневой инфекции. В доступной литературе описаны противовоспалительные, иммунодепрессивные и проводниковые свойства диметилсульфокси-

да. Однако нет данных о влиянии препарата на адгезию микроорганизмов.

Цель. Изучение влияния диметилсульфоксида на адгезивную активность штаммов *S. aureus*, изолированных из ран.

Материалы и методы. Изучено 50 штаммов стафилококков, выделенных из раневого отделяемого. Идентификацию изолятов проводили определяя культуральные, морфологические, тинкториальные и биохимические свойства. Для изучения воздействия на адгезивные свойства *S. aureus* применяли препарат «Димексид», ОАО «Марбиофарм», действующее вещество – диметилсульфоксид (ДМСО). Мы применяли 25%, 12%, 6% и 3% концентрацию препарата. Изучение адгезивной активности изолятов проводили согласно стандартной методике В.И. Брилиса. Исследование адгезии проводили в 96 – луночном планшете для иммунологических исследований. В контрольных образцах смесь нативных эритроцитов человека 0(I) группы крови Rh+ (4 McF) и суспензии тест-культуры (0,5 McF) вносили в лунки полистеролового планшета по 20 мкл. В экспериментальных образцах в лунки дополнительно вносили равный объём раствора ДМСО разной концентрации. Планшет помещали в термостат и инкубировали при 37±0,1 °С в течении 30 минут, регулярно встряхивая смесь. По окончании процесса инкубации готовили мазки, фиксировали в пламени горелки, окрашивали по Грамму и микроскопировали под световым микроскопом с иммерсией. Адгезивные свойства оценивали учитывая средний показатель адгезии (СПА) – среднее количество бактерий, прикрепившихся к одному эритроциту, индекса адгезивности микроорганизма (ИАМ) – среднее количество микробных клеток на одном участвующем в адгезивном процессе эритроците и коэффициента участия эритроцитов (КУЭ) – процент эритроцитов, имеющих на своей поверхности адгезированные микробы. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Excel 7,0.

Результаты. Данные исследования влияния ДМСО на адгезивные свойства стафилококков свидетельствуют о том, что данный препарат в 100% случаев блокировал адгезивную активность изучаемых штаммов. Результаты исследований показали, что обработка изучаемых штаммов ДМСО в вышеуказанных концентрациях приводила к достоверному снижению показателей адгезии ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Было установлено, что снижение концентрации препарата сопровождалось увеличением его антиадгезивной активности. Так при концентрации ДМСО 25%, среднее значение СПА составило 0,37±0,215, а при 3% – 0,04±0,04. Похожие результаты были получены и при изучении индекса адгезивности микроорганизма. Адгезивный потенциал штаммов *S. aureus* (контрольные значения ИАМ 2,72±0,75)