

П. Н. Золотарев

ВОЗДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРИРОДЫ НА ГЕМОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Аннотация.

Актуальность и цели. Особенность изменения биологических свойств микроорганизмов требует от современных препаратов способности не только бактериостатического или бактерицидного действия, но и возможности регулирования биологического потенциала возбудителя. Настоящая работа посвящена изучению модификации гемолитической активности микроорганизмов, вызывающих гнойно-воспалительные заболевания под действием фитосубстанций.

Материалы и методы. Материалом для исследования явился 31 штамм бактерий, высеянных из ран при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей, а также музейные штаммы. Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили на автоматическом бактериологическом анализаторе. Для изучения влияния фитосубстанций на гемолитическую активность культивирование бактерий проводили в питательных бульонах с субингибирующими концентрациями субстанций. Данные, полученные в ходе исследований, были обработаны методами дескриптивной статистики и представлены в виде доверительного интервала.

Результаты. Установлено, что максимальным ингибирующим эффектом на гемолитическую активность *Staphylococcus spp.* обладали сирени настойка, тополя почек настойка, зверобоя настойка, полыни эстрагон настойка, эфирное масло гвоздики, углекислотный экстракт гвоздики и его вторая фракция. Максимальное снижение гемолитической активности *Streptococcus spp.* было выявлено под действием тополя почек настойки, полыни эстрагон настойки, расторопши экстракта жидкого, углекислотного экстракта гвоздики и его второй и третьей фракций. Штаммы *Pseudomonas aeruginosa* максимально снизили гемолитическую активность под действием Melissa настойки, тополя почек настойки, настойки березы, полыни эстрагон настойки, а также первой и второй фракций углекислотного экстракта гвоздики.

Выводы. Установлено, что фитообразцы оказывают как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на гемолитическую активность. Разнонаправленное действие зависит как от видовой принадлежности бактерий, так и от природы фитосубстанции. Экспериментальное изучение регуляции гемолитической активности микроорганизмов фитосубстанциями показывает целесообразность применения данных образцов в клинической практике в качестве вспомогательных противомикробных средств как на этапе этиотропного лечения, так и для профилактики ряда инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: факторы патогенности, гемолитическая активность, фитосубстанции, гнойно-воспалительные заболевания.

P. N. Zolotarev

EFFECT OF VEGETABLE COMPOUNDS ON HEMOLYTIC ACTIVITY OF MICROORGANISMS

Abstract.

Background. The specific nature of biological feature changes in microorganisms requires modern drugs to have bacteriostatic and bactericidal effects, as well

as an opportunity to regulate the biological potential of a causative agent. The present work is devoted to studying a modification of the hemolytic activity of microorganisms that cause pyoinflammatory diseases under the influence of phytosubstances.

Materials and methods. The authors used 31 bacteria strains, extracted from wounds at pyoinflammatory diseases of soft tissues, and museum strains as the research material. The microorganisms were segregated and identified using an automatic bacteriological analyzer. In order to study the influence of phytosubstances on hemolytic activity the bacteria were cultivated in nutrient broths with subinhibitory concentrations of substances. The obtained data were processed by the methods of descriptive statistics and presented in the form of a confidence interval.

Results. It has been established that the maximum inhibitory effect on the hemolytic activity of *Staphylococcus spp.* was exerted by lilac extract, poplar gemmae extract, St. John's-wort extract, tarragon sagebrush extract, carnation essential oil, carnation carbon dioxide extract and the second fraction thereof. The maximum reduction of the hemolytic activity of *Streptococcus spp.* has been revealed under the influence of poplar gemmae extract, tarragon sagebrush extract, sylibum liquid extract, carnation carbon dioxide extract and the second and third fractions thereof. The *Pseudomonas aeruginosa* strains decreased the hemolytic activity to the max under the influence of Melissa extract, poplar gemmae extract, birch extract, tarragon sagebrush extract, as well as the first and second fractions of carnation carbon dioxide extract.

Conclusions. It has been established that phytosamples exert both stimulating and inhibitory impacts on hemolytic activity. The multidirectional effect depends both on bacteria species belonging, as well as on the nature of phytosubstances. Experimental studying of regulation of hemolytic activity of microorganisms by phytosubstances proves application expediency of the present samples in clinical practice as auxiliary means both at the stage of etiotropic treatment and for prevention of a number of infectious diseases.

Key words: factors of pathogenicity, hemolytic activity, phytosubstances, inflammatory diseases.

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, инфекционные болезни составляют 1/3 всех заболеваний. Это свидетельствует о том, что ими ежегодно болеют сотни миллионов людей [1].

В последнее столетие среди инфекционных заболеваний особо выделяют хирургическую инфекцию, в структуре которой ведущую группу составляют гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей [2].

На современном этапе лечения гнойной патологии используется большой арсенал средств этиотропной и патогенетической терапии. Однако актуальность поиска новых антимикробных препаратов остается высокой и по сей день. Это обусловлено как процессом смены ведущих возбудителей хирургической инфекции, так и изменением их биологических свойств [3–5].

В современное время поиск антимикробных соединений ведется в области как вновь синтезированных веществ, так и соединений растительной природы, в том числе полученных из высших растений [6–9].

По сравнению с синтетическими веществами, растительные антибиотические соединения обладают широким спектром активности и имеют способность воздействовать на резистентные штаммы [10].

Кроме того, не стоит забывать и о возрастающем числе штаммов, вызывающих гнойно-воспалительные заболевания, с измененными биологическими свойствами [11, 12].

Выделяемые факторы патогенности бактерий приводят к развитию инфекционного процесса, а усиление их продукции – к развитию затяжных и хронических форм течения заболеваний [12, 13].

Такая особенность изменения биологических свойств микроорганизмов требует от современных препаратов не только способности бактериостатического или бактерицидного действия, но и возможности регулирования биологического потенциала возбудителя.

Таким образом, изучение способности фитосубстанций изменять биологические свойства бактерий является в настоящее время актуальной проблемой, оптимальное решение которой требует комплексного и системного подхода.

Цель исследования – изучить модификацию гемолитической активности (ГА) микроорганизмов, вызывающих гнойно-воспалительные заболевания, под действием фитосубстанций.

Материалы и методы

Материалом для исследования явился 31 штамм бактерий, высеянных из ран при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей (абсцесс, флегмона, панариций, фурункул, карбункул и др.), а также музейные штаммы.

Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили на автоматическом бактериологическом анализаторе.

Для изучения влияния фитосубстанций на гемолитическую активность культивирование бактерий проводили в питательных бульонах с субингибирующими концентрациями субстанций.

Микроорганизмы культивировались в течение 18–24 часов при 37 °С. Для исключения вероятности воздействия фитосубстанций на компоненты методик центрифугированием культур в течение 15 мин при 3000 об/мин отделяли от клеток надосадочную жидкость, содержащую препараты. К осадку, содержащему живые микроорганизмы, добавляли питательные бульоны, вновь культивировали в вышеописанных режимах и изучали факторы вирулентности и персистенции.

Перед воздействием субингибирующих концентраций фитосубстанций на микроорганизмы все исследуемые штаммы определялись на гемолитическую, липолитическую и лецитовителлазную активности. Штаммы, обладающие этими свойствами, были изучены в экспериментах.

Видовой состав был представлен следующими бактериями: *Staphylococcus spp.* – 13 штаммов; *Streptococcus spp.* – 11 штаммов; *Pseudomonas aeruginosa* – 7 штаммов.

Гемолитическую активность бактерий определяли на 5 % кровяном агаре. В расплавленную и остуженную до 45 °С питательную среду вносили донорскую эритроцитарную массу и разливали в стерильные чашки Петри из расчета 20 мл на одну чашку. После застывания среды на поверхность агара наносили «пяточками» исследуемые культуры микроорганизмов. Засеянные чашки инкубировали в термостате при 37 °С в течение 18–24 часов. Результаты учитывали по появлению зон просветления (гемолиза) вокруг колоний.

Между исследуемыми культурами проводили сравнение коэффициента, который высчитывался следующим образом: k (ед) = диаметр зоны гемолитической активности исследуемого штамма / диаметр зоны выросшей колонии исследуемого штамма [14].

Данные, полученные в ходе исследований, были обработаны методами дескриптивной статистики и представлены в виде доверительного интервала ($M \pm m$). О достоверности различий судили с помощью критерия (t) Стьюдента. Проверка статистических гипотез проводилась при критическом уровне значимости $p \leq 0,05$. Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью пакета прикладных программ StatSoft Statistica v.6.0 и Excel 2000 (MS Office 2000, USA) [15].

Результаты и обсуждение

Результаты изучения влияния фитосубстанций на патогенные факторы бактерий представлены на рис. 1–4. Как видно из представленных данных, фитосубстанции оказывают разнонаправленное влияние на патогенные характеристики изученных микроорганизмов в зависимости как от их видовой принадлежности, так и от природы фитосубстанции.

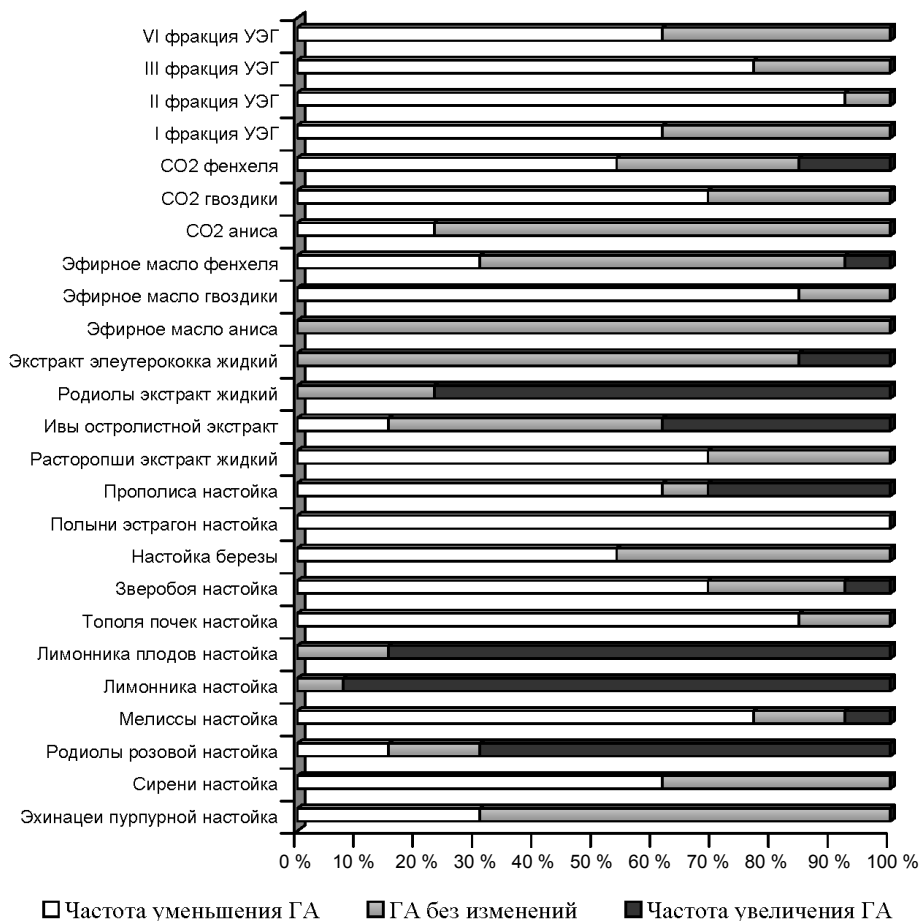


Рис. 1. Частота изменения гемолитической активности *Staphylococcus spp.* фитосубстанциями

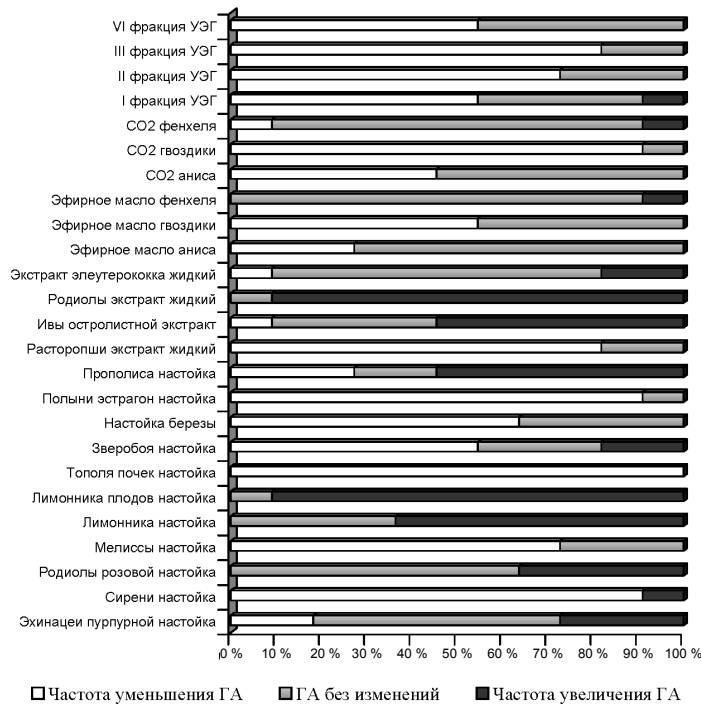


Рис. 2. Частота изменения гемолитической активности *Streptococcus spp.* фитосубстанциями

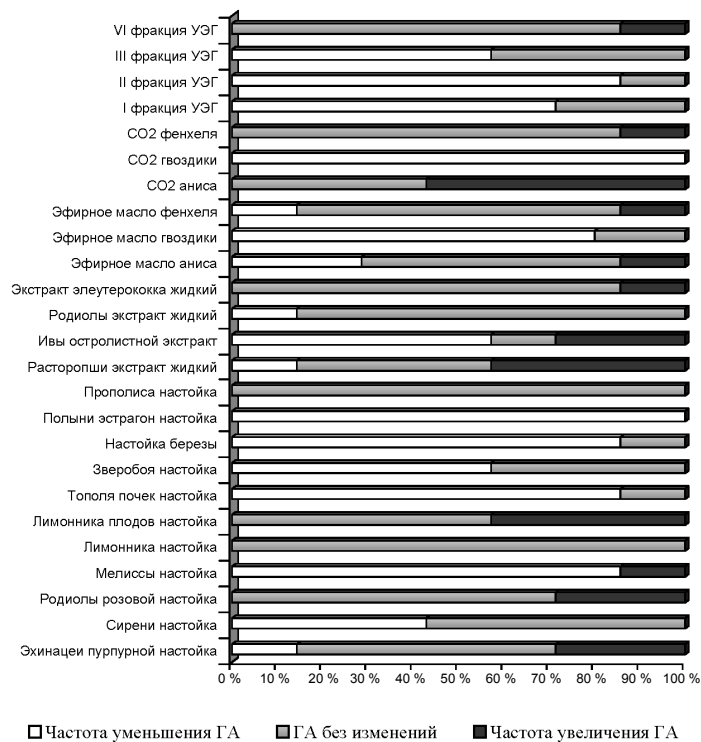


Рис. 3. Частота изменения гемолитической активности *Pseudomonas aeruginosa* фитосубстанциями

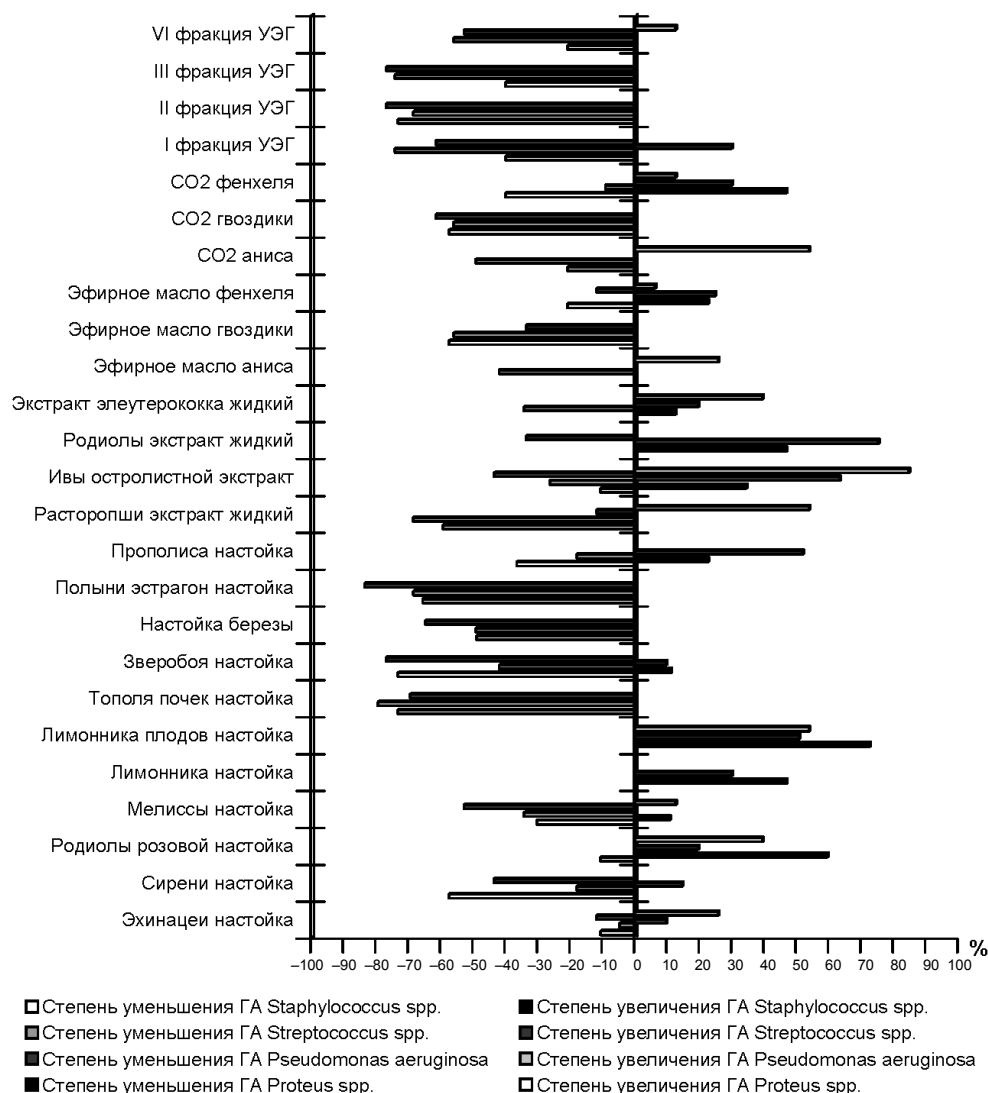


Рис. 4. Степень изменения гемолитической активности микроорганизмов под действием фитосубстанций

Так, установлено, что максимальным ингибирующим эффектом на ГА *Staphylococcus spp.* (снижение признака у 60–100 % исследуемых штаммов на 50 % и более) обладали сирени настойка, тополя почек настойка, зверобоя настойка, полыни эстрагон настойка, эфирное масло гвоздики, углекислотный экстракт гвоздики и его вторая фракция.

Максимальное снижение ГА *Streptococcus spp.* было выявлено под действием тополя почек настойки, полыни эстрагон настойки, расторопши экстракта жидкого, углекислотного экстракта цветков гвоздики (УЭГ) и его второй и третьей фракций.

Штаммы *Pseudomonas aeruginosa* максимально снизили ГА под действием мелиссы настойки, тополя почек настойки, настойки березы, полыни эстрагон настойки, а также первой и второй фракций УЭГ.

Из данных, представленных на рис. 1–4, также можно отметить, что лимонника плодов настойка и родиолы экстракт жидкий оказали стимулирующее воздействие на ГА *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.*, увеличивая данный признак у 60–100 % исследуемых штаммов на 50 % и более. Так, лимонника плодов настойка повышала ГА *Staphylococcus spp.* у 84,61 % штаммов на 72,50 %; ГА *Streptococcus spp.* у 90,91 % штаммов на 50,76 %; родиолы экстракт жидкий – ГА *Staphylococcus spp.* у 76,93 % штаммов на 59,38 %; ГА *Streptococcus spp.* у 95,64 % штаммов на 75,20 %.

Также следует отметить, что расторопши экстракт жидкий понижал ГА грамположительных микроорганизмов от 40 до 70 % у 70–80 % штаммов, тогда как на грамотрицательные штаммы (*Pseudomonas aeruginosa*) оказывал стимулирующее влияние (повышение признака на 53,85 %).

Выводы

Таким образом, подводя итог изучению динамики гемолитической активности бактерий, вызывающих гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей фитосубстанциями, выявлено, что данные образцы оказывают как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на данную активность. Разнонаправленное действие зависит как от видовой принадлежности бактерий, так и от природы фитосубстанции.

Экспериментальное изучение регуляции ГА микроорганизмов фитосубстанциями, содержащими фенолпропаноиды и флавоноиды, показывает целесообразность применения данных фитосубстанций в клинической практике в качестве вспомогательных противомикробных средств как на этапе этиотропного лечения, так и для профилактики ряда инфекционных заболеваний.

Список литературы

1. **Коротяев, А. И.** Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учеб. для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – СПб. : СпецЛит, 2002. – 591 с.
2. **Лещенко, И. Г.** Гнойная хирургическая инфекция / И. Г. Лещенко, Р. А. Галкин. – Самара : Перспектива, 2003. – 326 с.
3. Антибактериальная терапия : практическое руководство / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. – М. : Полимаг, 2000. – 192 с.
4. **Золотарев, П. Н.** Создание антибактериальной лекарственной пленки на основе перспективной субстанции / П. Н. Золотарев // Аспирантские чтения – 2007 : тр. межвуз. конф. молодых ученых. Приложение к межвузовскому журналу «Аспирантский вестник Поволжья». – Самара, 2007. – С. 9–21.
5. **Куркина, А. В.** Поиск новых лекарственных препаратов в целях профилактики и лечения хирургической инфекции / А. В. Куркина, А. А. Супильников // Фармация и медицина. – Самара, 2001. – № 7. – С. 83–85.
6. **Золотарев, П. Н.** Исследование зависимости антибактериального эффекта и химической структуры некоторых растительных веществ / П. Н. Золотарев // Международные стандарты, основанные на принципах доказательной медицины, в проведении научных исследований в здравоохранении : сб. тр. конф. – Самара : Британский Совет, 2007. – С. 71–73.
7. **Золотарев, П. Н.** Оценка антибактериальной активности лекарственных пленок, содержащих II фракцию углекислотного экстракта цветков гвоздики (*Caryophyllus aromaticus* L.) / П. Н. Золотарев // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. – Самара : Самарский университет, 2006. – № 9 (49). – С. 145–154.

8. Куркин, В. А. Фармакогнозия : учеб. для студентов фармацевтических вузов / В. А. Куркин. – Самара : Офорт : СамГМУ, 2004. – 1200 с.
9. Сатдарова, Ф. Ш. Современные подходы к стандартизации сырья и разработке новых препаратов лимонника китайского с изучением влияния на вирулентную активность бактерий / Ф. Ш. Сатдарова, П. Н. Золотарев, Н. Р. Шагалиева // Известия Самарского научного центра Российской Академии Наук. XII Конгресс «Экология и здоровье человека». – 2007. – Т. 2 – С. 198–203.
10. Золотарев, П. Н. Динамика антибиотикочувствительности микроорганизмов под действием фитосубстанций / П. Н. Золотарев // Аспирантские чтения – 2007 : тр. межвуз. конф. молодых ученых. Приложение к межвузовскому журналу «Аспирантский вестник Поволжья». – Самара, 2007. – С. 21–25.
11. Бухарин, О. В. Персистенция патогенных бактерий / О. В. Бухарин. – М. : Медицина ; Екатеринбург : УрО РАН, 1999. – 366 с.
12. Мефодьев, В. В. Этиология гнойно-септических заболеваний и антибиотикорезистентность выделяемых возбудителей / В. В. Мефодьев, Р. М. Хохлявина, Л. Б. Козлов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2002. – № 2. – С. 119–120.
13. Билев, А. Е. Патогенные (гноеродные) кокки : учеб. пособие для обучающихся лечебного факультета / А. Е. Билев, П. Н. Золотарев. – Самара : Медицинский университет «Реавиз», 2015. – 60 с.
14. Лабинская, А. С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / А. С. Лабинская, Л. П. Блинкова, А. С. Ещина. – М. : Медицина, 2004. – 576 с.
15. Грошовый, Т. А. Математическое планирование эксперимента / Т. А. Грошовый, Е. В. Маркова, В. А. Головкин. – Киев : Вища школа, 1992. – 185 с.

References

1. Korotyaev A. I., Babichev S. A. *Meditinskaya mikrobiologiya, immunologiya i virusologiya: ucheb. dlya med. vuzov* [Medical microbiology, immunology and virology: textbook for medical universities]. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2002, 591 p.
2. Leshchenko I. G., Galkin R. A. *Gnoynaya khirurgicheskaya infektsiya* [Pyogenic nosocomial infection]. Samara: Perspektiva, 2003, 326 p.
3. *Antibakterial'naya terapiya: prakticheskoe rukovodstvo* [Antibacterial therapy: practical guidelines]. Ed. by L. S. Strachunskiy, Yu. B. Belousov, S. N. Kozlov. Moscow: Polimag, 2000, 192 p.
4. Zolotarev P. N. *Aspirantskie chteniya – 2007: tr. mezhvuz. konf. molodykh uchenykh. Prilozhenie k mezhvuzovskomu zhurnalu «Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya»* [Postgraduate readings – 2007: proceedings of the Interregional conference of young scientists. Supplement to the journal “Postgraduate bulletin of Volga region”]. Samara, 2007, pp. 9–21.
5. Kurkina A. V., Supil'nikov A. A. *Farmatsiya i meditsina* [Pharmacy and medicine]. Samara, 2001, no. 7, pp. 83–85.
6. Zolotarev P. N. *Mezhdunarodnye standarty, osnovannye na printsipakh dokazatel'noy meditsiny, v provedenii nauchnykh issledovaniy v zdravookhranении: sb. tr. konf.* [International standards of research in healthcare, based on principles of evidence-based medicine: conference proceedings]. Samara: Britanskiy Sovet, 2007, pp. 71–73.
7. Zolotarev P. N. *Vestnik SamGU. Estestvennonauchnaya seriya* [Bulletin of Samara State University. Series: Natural sciences]. Samara: Samarskiy universitet, 2006, no. 9 (49), pp. 145–154.
8. Kurkin V. A. *Farmakognoziya: ucheb. dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov* [Pharmacognosy: textbook for students of pharmaceutical universities]. Samara: Ofort: SamGMU, 2004, 1200 p.

9. Satdarova F. Sh., Zolotarev P. N., Shagalieva N. R. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy Akademii Nauk. XII Kongress «Ekologiya i zdorov'e cheloveka»* [Bulletin of Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences. XII congress "Ecology and human health"]. 2007, vol. 2, pp. 198–203.
10. Zolotarev P. N. *Aspirantskie chteniya – 2007: tr. mezhvuz. konf. molodykh uchenykh. Prilozhenie k mezhvuzovskomu zhurnalu «Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya»* [Postgraduate readings – 2007: proceedings of the Interregional conference of young scientists. Supplement to the journal "Postgraduate bulletin of Volga region"]. Samara, 2007, pp. 21–25.
11. Bukharin O. V. *Persistentsiya patogennykh bakteriy* [Persistence of pathogenic bacteria]. Moscow: Meditsina; Ekaterinburg: UrO RAN, 1999, 366 p.
12. Mefod'ev V. V., Khokhlyavina R. M., Kozlov L. B. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunology]. 2002, no. 2, pp. 119–120.
13. Bilev A. E., Zolotarev P. N. *Patogennye (gnoerodnye) kokki : ucheb. posobie dlya obuchayushchikhsya lechebnogo fakul'teta* [Pathogenic (pyogenic) cocci: tutorial for students of medical faculties]. Samara: Meditsinskiy universitet «Reaviz», 2015, 60 p.
14. Labinskaya A. S., Blinkova L. P., Eshchina A. S. *Obshchaya i sanitarnaya mikrobiologiya s tekhnikoy mikrobiologicheskikh issledovaniy* [General and sanitary microbiology with technique of microbiological research]. Moscow: Meditsina, 2004, 576 p.
15. Groshovyy T. A., Markova E. V., Golovkin V. A. *Matematicheskoe planirovanie eksperimenta* [Mathematical planning of experiments]. Kiev: Vishcha shkola, 1992, 185 p.

Золотарев Павел Николаевич

кандидат медицинских наук, доцент,
кафедра морфологии и патологии,
Медицинский университет «Реавиз»
(Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 227)

Zolotarev Pavel Nikolaevich

Candidate of medical science, associate
professor, sub-department of pathology
and morphology, Medical University
«REAVIS»
(227 Chapaevskaya street, Samara, Russia)

E-mail: zolotareff@list.ru

УДК 576.8.06; 616-018-002.3: 615.322

Золотарев, П. Н.

Воздействие соединений растительной природы на гемолитическую активность микроорганизмов / П. Н. Золотарев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2015. – № 4 (12). – С. 29–37.