

Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2016

В. С. Сибирцев¹, И. А. Наумов², Е. Э. Куприна¹, Р. О. Олехнович¹

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДИКИ ИМПЕДАНСНОГО БИОТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ДЕЙСТВИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ

¹ Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики (НИУ ИТМО), Россия, Санкт-Петербург; e-mail: vs1969r@mail.ru

² Научно-исследовательский и проектно-конструкторский институт по развитию и эксплуатации флота (Гипрорыбфлот), Россия, Санкт-Петербург

Описана методика анализа микробных “кривых роста” с помощью регистрации в режиме реального времени параллельно для множества образцов изменения импедансной электропроводности среды, происходящего вследствие протекания в анализируемых образцах процессов метаболизма тестовых микроорганизмов. Показаны результаты практического применения предлагаемой методики импедансного биотестирования для анализа антибактериальной активности антисептического средства хлоргексидина биглюконата; а также растворов католита и анолита, получавшихся 25 минутной обработкой 1 % растворов NaCl и Na₂SO₄ на 2-литровом электролизере специальной конструкции при силе тока $I = 7$ А и напряжении $U = 28$ В.

Ключевые слова: биотестирование методики; кондуктометрический импеданс-анализ микроорганизмов; антисептические свойства; католиты; анолиты; про- и антибактериальная активность.

В последнее время в связи с необходимостью поиска новых, более эффективных про- и антибиотиков всё более актуальной становится проблема разработки как можно более простых, дешевых, быстрых, надежных, объективных и массово доступных способов биотестирования таких препаратов [1 – 7].

В то же время принятые в настоящее время в качестве стандартных при биотестировании антимикробных свойств различных препаратов процедуры оценки общей выживаемости микроорганизмов и величины зоны задержки роста их колоний требуют для своего проведения значительных затрат материалов, времени и труда квалифицированного персонала. В результате получают лишь весьма субъективную (вследствие необходимости применения ручного труда, плохо поддающегося стандартизации) и “статическую” информацию о летальных нарушениях в жизнедеятельности тестовых организмов [8 – 10].

В связи с этим нами предложено дополнить вышеупомянутые стандартные процедуры биотестирования: 1) флуориметрической оценкой изменений структуры генома тестовых организмов; 2) динамическим анализом “кривых роста” тестовых микроорганизмов (которые могут регистрироваться, в частности, по величине импедансной электропроводности системы, изменяющейся вследствие преобразования в процессе жизнедеятельности присутствующими там тестовыми микроорганизмами одних химических веществ в другие).

Применение первой из вышеупомянутых методик биотестирования (с помощью специально разработанной нами системы синтетических флуорофоров с согласованными комплексобразующими с ДНК и спектраль-

ными свойствами) для анализа нелетальных изменений структуры генома (в т.ч. пространственной — чувствительной даже к небольшим изменениям характера жизнедеятельности клеток микро- и макроорганизмов), возникающих вследствие воздействия на тестовые организмы различных внешних химических и физических факторов (что может быть полезно, в частности, при биотестировании токсических свойств различных препаратов) в общих чертах уже описано нами ранее [11 – 14].

В то же время методика импедансного биотестирования пока ещё является не только мало применяемой, но и весьма мало описанной (причем, не только в нашей стране). При этом наиболее доступными и приемлемыми по своим возможностям и техническим характеристикам для осуществления данной методики являются в настоящее время, на наш взгляд, такие микробиологические кондуктометрические анализаторы, как “BacTrac” и “Rabit”, выпускаемые компаниями “SY-LAB GmbH” (Австрия) и “Don Whitley Scientific Limited” (Великобритания), применение которых в качестве возможной альтернативы стандартному культуральному методу определения микробиологической обсемененности образцов прописано, в частности, в ГОСТ Р 54354-2011 и подробно описано в МУК 4.2.581-96 и МУК 4.2.2578-10.

Экспериментальная часть

Для проведения конкретных экспериментов по импедансному биотестированию, описываемых ниже, использовался биоанализатор “Rabit”, в каждую из одной или многоцветных измерительных ячеек которого (вы-

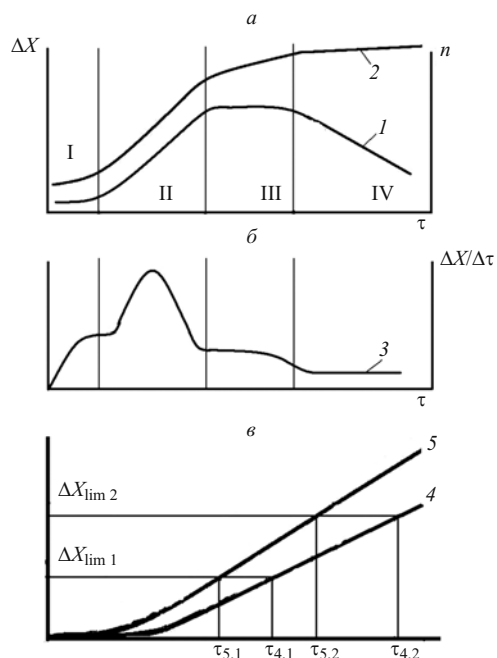


Рис. 1. Сопоставление типичных “кривых роста”, регистрируемых для чистой культуры микроорганизмов в замкнутой системе (без добавления питательных веществ и отвода метаболитов после начала измерений): непосредственно, по изменению концентрации микробных тел (n , КОЕ/мл) (кривая 1) и косвенно, по изменению удельной импедансной электропроводности среды ($\Delta\chi$, мкСм \cdot мл $^{-1}$) (кривая 2). По оси абсцисс — время от начала измерений τ , ч. Римскими цифрами обозначены области фаз роста микроорганизмов: I — начальной (лаг-), II — экспоненциальной (лог-); III — стационарной и IV — отмирания. Кривой 3 обозначено изменение со временем величины $\Delta\chi/\Delta\tau$ (мкСм \cdot мл $^{-1} \cdot$ ч $^{-1}$) (1-я производная от кривой 2), а кривыми 4 и 5 обозначены изменения со временем величины χ , зарегистрированные нами на анализаторе “Rabit” в результате роста в жидкой питательной среде *E. coli* с исходной обсемененностью 10^4 и 10^5 КОЕ/мл, соответственно.

полненных из стекла или термопластика и имеющих диаметр 15 мм, высоту 100 мм и 2 электрода из нержавеющей стали длиной 15 мм, расположенных в нижней части ячейки) наливали от 2 до 10 мл (в соответствии с планом эксперимента) жидкой питательной среды (ЖПС) общего назначения. В настоящей работе выбрана ЖПС, изготавливаемая ЗАО НИЦФ (РФ, Санкт-Петербург) по ТУ 10-02-02-789-176-94 и содержащая на 100 мл дистиллированной воды 2,5 г сухого ферментативного гидролизата мяса и 0,5 мл NaCl) либо иного состава, выбираемого в соответствии с особенностями метаболизма и морфологии конкретного вида и штамма используемых тестовых микроорганизмов.

Затем все ячейки закрывали сверху пробками (ватно-марлевыми или иными пропускающими воздух, но препятствующими при этом проникновению внутрь ячейки посторонних микроорганизмов) и стерилизовали автоклавированием в течение 20 мин при температуре 121 °С. После чего вновь остужались до комнатной температуры.

Далее в каждую из ячеек стерильно засеивали необходимое (в соответствии с планом эксперимента) количество водной суспензии тестовых микроорганизмов, в качестве которых был выбран штамм *Escherichia coli* K 12, являющийся в настоящее время наиболее широко

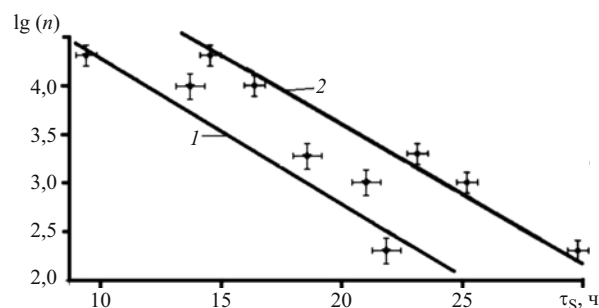


Рис. 2. Результаты сопоставления данных, полученных с помощью методики импедансного биотестирования (τ_s — время от начала измерений, за которое удельная импедансная электропроводность тестируемых образцов увеличивается на величину $\Delta\chi_{lim}$) со стандартным культуральным методом определения общего количества клеток *E. coli* в образцах (n , КОЕ/мл) [10]. Точками обозначены экспериментальные данные, полученные для $\Delta\chi_{lim} = 100$ мкСм/мл (1) и $\Delta\chi_{lim} = 200$ мкСм/мл (2); а прямыми — соответствующие им регрессионные зависимости: $\lg n = 5,8 - 0,14\tau_s$ (1) и $\lg n = 6,6 - 0,14\tau_s$ (2) с коэффициентами корреляции $r = 0,815$ (1) и $r = 0,901$ (2) (удовлетворяющими уровням достоверности 90 и 95 % соответственно).

используемым и официально признанным санитарно-показательным и тестовым микроорганизмом. Затем в каждую из ячеек также стерильно добавляли необходимое (в соответствии с планом эксперимента) количество того или иного тестируемого препарата — сразу или после предварительного инкубирования при заданной температуре. После этого все ячейки с анализируемыми образцами ставили в один из измерительных блоков биоанализатора “Rabit”, в каждый из которых помещается от 1 до 32 независимо измеряемых ячеек, а всего таких блоков к одному управляющему процессорному модулю анализатора “Rabit” может быть одновременно подсоединено от 1 до 16, и инкубировались там в течение заданного времени при заданной температуре. Температуру также выбирали в соответствии с особенностями метаболизма и морфологии конкретного вида и штамма используемых тестовых микроорганизмов. Регистрацию проводили в автоматическом режиме через каждые 6 мин независимо для каждого из анализируемых образцов импедансной электропроводности среды. Последнюю определяют в качестве величины, обратной сопротивлению потоку переменного электрического тока через проводящий материал, и вычисляют по формуле:

$$1/\chi = [R^2 + (2\pi FC)^{-2}]^{1/2},$$

где R — активное омическое сопротивление, F — частота электрического тока, Гц; C — емкостное сопротивление среды, пФ [15].

При этом получаемые значения χ сохранялись в памяти компьютера и по окончании эксперимента анализировались графически и статистически (в том числе, при необходимости, с построением корреляционных и регрессионных зависимостей по методу наименьших квадратов) [16, 17].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 и 2 показаны результаты проведенного нами сопоставления предлагаемой методики импеданс-

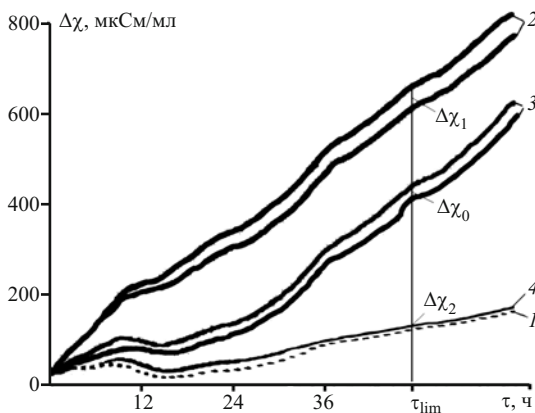


Рис. 3. Результаты исследования антибактериальной активности хлоргексидина биглюконата (CHGL) с помощью микробиологического кондуктометрического анализатора “Rabit”. По оси абсцисс — время от начала измерений; по оси ординат — изменение удельной импедансной электропроводности среды относительно её исходного значения при $\tau = 0$: 1 — “стерильная” питательная среда (ПС) (пунктирная линия); 2 — *E. coli* в ПС без CHGL; 3 — *E. coli* в ПС с 10^{-4} объемных % (об. %) CHGL; 4 — *E. coli* в ПС с 10^{-3} об. % CHGL.

ного биотестирования со стандартным (в соответствии с [10], ГОСТ 18963–73, ГОСТ 26670–91 и ГОСТ 10444.15–94) культуральным методом определения в образцах общего количества клеток *E. coli*.

Для проведения импедансного анализа в каждую из 30 измерительных ячеек биоанализатора “Rabit” заливали по 1,6 мл ЖПС. Далее после стерилизации автоклавированием по 5 ячеек в параллель засеивали каждую по 0,4 мл суспензии *E. coli* К 12 с концентрацией 0 (“фоновый контроль”), 10^3 , $5 \cdot 10^3$, 10^4 , $5 \cdot 10^4$ и 10^5 КОЕ/мл соответственно. Затем каждую из ячеек помещали в измерительный модуль анализатора “Rabit” и инкубировали там при 37°C не менее чем τ_s , ч (где τ_s — время, за которое χ образца изменялось относительно исходного значения, регистрируемого для каждой ячейки при $\tau = 0$, на величину $\Delta\chi_{lim}$).

Из результатов проведенного анализа видно, что экспериментальные импедансные “кривые роста” (определяемые по изменению тестовыми микроорганизмами удельной импедансной электропроводности среды), совпадая с теоретической “кривой роста” (непосредственно характеризующей количество микробных тел в образце) во время лаг-фазы (когда идет адаптация микроорганизмов к новым для них условиям существования) и лог-фазы (когда идет активное “экспоненциальное” размножение микроорганизмов в анализируемом образце), отличаются от последней на стационарной стадии (когда количество микроорганизмов в образце остается постоянным) и стадии отмирания (когда количество микроорганизмов в образце уменьшается, в частности, из-за истощения питательной среды, но процессы клеточного метаболизма при этом не идут в обратном направлении) (рис. 1, а).

Определение же конкретного количества жизнеспособных микроорганизмов в образце (n , КОЕ/мл) с применением импедансных технологий наиболее легко может быть осуществлено по калибровочному графику, который желательно строить для каждого конкретного

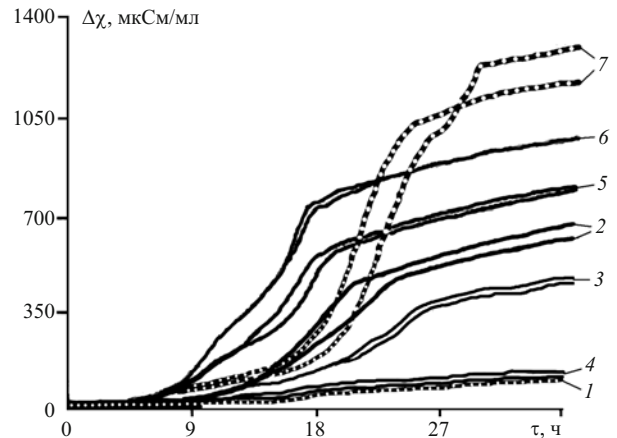


Рис. 4. Результаты исследования влияния на рост *E. coli* растворов католита (Кт) и анолита (Ат) с помощью микробиологического кондуктометрического анализатора “Rabit”: 1 — “стерильная” питательная среда (ПС) (нижняя пунктирная линия); 2 — *E. coli* в ПС без An и Кт; 3 — *E. coli* в ПС с 1 об. % An; 4 — *E. coli* в ПС с 5 об. % An; 5 — *E. coli* в ПС с 5 об. % Кт; 6 — *E. coli* в ПС с 10 об. % Кт; 7 — *E. coli* в ПС с 25 об. % Кт (верхняя пунктирная линия).

вида и штамма тестовых микроорганизмов так, как показано на рис. 1, в и рис. 2, в виде:

$$\lg(n) = a\tau_s + b,$$

где a и b — эмпирические коэффициенты, зависящие от вида и штамма тестовых микроорганизмов, температуры инкубации, а также характеристик питательной среды и прибора, применяемых при анализе.

При этом в качестве $\Delta\chi_{lim}$ надежней всего, конечно, выбрать $\Delta\chi$, при котором в образце происходит переход из экспоненциальной фазы роста тестовых микроорганизмов в стационарную. Но так как это значительно увеличит время анализа (если не использовать специально обеднённые питательными веществами среды), то в качестве $\Delta\chi_{lim}$ при построении калибровки обычно принимают какое-либо пороговое значение $\Delta\chi$ в начале экспоненциальной фазы роста образца с наибольшей исходной концентрацией тестовых микроорганизмов. При этом, как видно из рис. 1, в и 2, чем меньше принятое пороговое значение $\Delta\chi_{lim}$, тем меньше время затрачивается на импедансный анализ, но больше ошибка определения τ_s каждого из образцов (а соответственно и их микробной обсемененности n). Таким образом, малые значения $\Delta\chi_{lim}$ лучше применять при анализе образцов с высокой ожидаемой микробной контаминацией. А большие значения $\Delta\chi_{lim}$, наоборот, лучше применять при анализе образцов с малой ожидаемой микробной контаминацией.

Однако при определенных условиях в результате жизнедеятельности некоторых тестовых микроорганизмов регистрируемая для них величина χ может не увеличиваться со временем, а уменьшаться. Как, например, в случае применения методики косвенного (непрямого) кондуктометрического биотестирования, в ходе которой измеряется импедансная электропроводность стерильного подщелоченного агара, контактирующего с углекислым газом, выделяющимся в результате жизнедеятельности тестовых аэробных микроорганизмов в отдельно расположенном образце с ЖПС с высокой

электропроводностью (что затрудняет использование для его анализа вышеописанной методики прямого импедансного биотестирования). Или если возникает необходимость использования для импедансного анализа спорообразующих тестовых микроорганизмов, взятых, к тому же, не в экспоненциальной фазе своего роста (поскольку из-за неравномерного прорастания спор лаг-фаза даже у параллельно приготавливаемых образцов может иметь разную длительность).

В этих случаях для определения конкретного количества жизнеспособных микроорганизмов лучше использовать величину не τ_s , а $|\Delta\chi/\Delta\tau|_{\max}$ (модуль максимального изменения удельной импедансной электропроводности образца в единицу времени, наблюдающийся, как видно из рис. 1, б, в середине экспоненциальной фазы роста тестовых микроорганизмов в анализируемом образце), определить который можно как графическим, так и аналитическим путем, как тангенс угла наклона кривых 4 и 5 на рис. 1 или по формулам:

$$\Delta\chi/\Delta\tau = (\Delta\chi_{\lim_2} - \Delta\chi_{\lim_1}) / (\tau_{4,2} - \tau_{4,1}),$$

$$\Delta c/\Delta\tau = (\Delta\chi_{\lim_2} - \Delta\chi_{\lim_1}) / (\tau_{5,2} - \tau_{5,1})$$

(для образцов 4 и 5 из рис. 1, соответственно). Этот метод хотя и более сложен, чем использованный в настоящей работе, но зато более надежен.

На рис. 3 показаны результаты применения предлагаемой методики импедансного биотестирования к анализу угнетающего действия на *E. coli* антисептика хлоргексидина биглюконата (CHGL) (0,05 % водный раствор, изготовленный ООО “Росбио”, Россия).

При этом измерительные ячейки с ЖПС готовились к анализу так же, как и в предыдущем случае. Затем в каждую из этих ячеек (кроме используемых для “фоновго контроля”) засеивали по 0,2 мл водной суспензии с 10^5 КОЕ/мл *E. coli* К 12. После этого все ячейки инкубировали при 37 °С в течение 12 ч (чтобы начать анализ уже на стадии экспоненциального роста тестовых микроорганизмов, когда они наиболее чувствительны к внешним воздействиям). Далее в каждую из ячеек добавляли по 0,2 мл стерильного водного раствора с разными концентрациями CHGL. После чего все ячейки помещали в измерительный модуль анализатора “Rabit” и инкубировали там при 37 °С в течение 2,5 сут с автоматической регистрацией через каждые 6 мин величины полной проводимости средой гармонически переменного электрического тока отдельно в каждой из ячеек.

Всего проведено 3 последовательных серии таких измерений, в каждой из которых анализировалось по 16 образцов (4 варианта по 4 параллельных образца в каждом). На рис. 3 показаны наибольший и наименьший результаты измерения анализатором “Rabit” каждого из тестируемых вариантов, где разброс значений определялся по 12 образцам. Причем выбран такой режим построения графиков, при котором из значений импедансной электропроводности, регистрируемых для каждой ячейки, вычиталась величина χ_0 , регистрировавшаяся для каждого из образцов в момент начала измерений (и составлявшая в данном случае $\chi_0 = (8,7 \div 9,3) \cdot 10^{-3}$ См/мл для “стерильной” ЖПС, и $\chi_0 = (1,08 \div 1,11) \cdot 10^{-2}$ См/мл для остальных образцов).

Для того чтобы получить строгие количественные характеристики действия CHGL на *E. coli*, в данном случае при наличии положительного (*E. coli* в ЖПС без CHGL) и отрицательного (“стерильная” ЖПС) контролей с заранее известными в них концентрациями микроорганизмов (10^5 и 1 КОЕ/мл, соответственно), можно было обойтись даже без предварительной калибровки. Так, решая систему из 2 уравнений вида:

$$\lg(n_1) = a\Delta\chi_1 + b,$$

$$\lg(n_2) = a\Delta\chi_2 + b$$

получаем:

$$a = [\lg(n_2) - \lg(n_1)] / [\Delta\chi_2 \cdot (1 - \Delta\chi_1/\Delta\chi_2)],$$

$$b = \lg(n_1) - a\Delta\chi_1.$$

В нашем случае, как видно из рис. 3, для $\lg(n_1) = 5$ и $\lg(n_2) = 0$ и $\tau_{\lim} = 48$ ч — $\Delta\chi_1 = (122 \pm 9)$ мкСм/мл, $\Delta\chi_2 = (635 \pm 33)$ мкСм/мл и $\Delta\chi_{\text{CHGL}} = (418 \pm 21)$ мкСм/мл.

Откуда, подставляя найденные значения a и b в выражение:

$$\lg(n_{\text{Xg}}) = a\Delta\chi_{\text{CHGL}} + b,$$

получаем $n_{\text{Xg}} = (700 \pm 300)$ КОЕ/мл для образца с CHGL в концентрации 10^{-4} об. %.

Из представленного видно, что CHGL в концентрации 10^{-3} об. % оказывал бактерицидное, а в концентрации 10^{-4} об. % — бактериостатическое действие на обрабатываемые им образцы, содержащие ЖПС, обсемененную *E. coli*. Подтверждают это и данные, полученные стандартным культуральным методом. В этом случае получены следующие концентрации *E. coli*:

- 1) ЖПС без CHGL — $(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^5$ КОЕ/мл;
- 2) ЖПС с 10^{-4} об. % CHGL — (800 ± 250) КОЕ/мл;
- 3) ЖПС с 10^{-3} об. % CHGL — (5 ± 2) КОЕ/мл.

На рис. 4 показаны результаты применения предлагаемой методики импедансного биотестирования к анализу про- и антибиотических свойств растворов католита (Kt) и анолита (An), получавшихся в течение 25 мин обработки 1 % растворов NaCl (Kt) и Na₂SO₄ (An) при силе тока 7 А и напряжении 28 В на специально разработанном лабораторном электролизере, который представляет собой параллелепипед из оргстекла, имеющий размеры 400 × 28 × 140 мм и разделенный пополам по длинной стороне полимерной ион-селективной перегородкой (допускающей ионную электропроводность, но не позволяющей количественно смешиваться электродным раствором, непосредственно контактирующим с электродами). При этом электроды представляли собой металлические пластины (анод — платинированный; катод — из нержавеющей стали), целиком занимающие 2 длинные стороны электролизера. Добавление к анализируемым образцам Kt и An производилось сразу же после получения последних по той же схеме, что и для CHGL в предыдущем опыте (только сразу после засева тестовых микроорганизмов в измерительные ячейки анализатора “Rabit” со стерильной ЖПС, а не после 12 ч предварительного их инкубирования).

Из представленного видно, что свежеприготовленный раствор An уже в концентрации 1 об. % оказывал бактериостатическое, а в концентрации 5 об. % бактери-

цидное действие на ЖПС с *E. coli* в количестве 10^4 КОЕ/мл. В то время как свежеприготовленный раствор Kt, начиная с концентрации 5 об. %, активировал жизнедеятельность тестовых микроорганизмов. Причем, не только увеличивая интенсивность экспоненциальной фазы роста *E. coli*, но и сокращая продолжительность начальной (лаг-) фазы и время наступления стационарной фазы роста (при концентрациях Kt до 10 об. % включительно, в то время как при увеличенных концентрациях Kt продолжительность лаг-фазы роста *E. coli* оставалась той же, что и в отсутствие Kt; тогда как время наступления стационарной фазы роста, наоборот, увеличивалось).

Таким образом, предлагаемый в настоящей работе метод импедансного биотестирования, обеспечивая достаточно высокий уровень сходимости своих данных с данными, получаемыми в результате применения стандартных культуральных методик биотестирования (рис.1), имеет по сравнению с последними ряд преимуществ, в частности:

возможность получения значительно более подробной информации о динамике изменения как численности популяции тестовых микроорганизмов, так и их метаболической активности (приводящей к изменению химического состава и соответственно электропроводности среды обитания таких организмов даже при остающемся постоянным их количестве);

значительное уменьшение расхода питательных сред и трудозатрат исследователя при проведении анализов (поскольку при импедансном анализе отпадает необходимость в приготовлении большого числа последовательных разведений исходной пробы, как это предусматривает стандартный культуральный метод определения количества микроорганизмов; а также, как видно, например, из результатов оценки антибактериальной активности CHGL, при микробиологическом анализе даже одного, отдельно взятого разведения тратилось $4 \cdot 2 = 8$ мл ЖПС, вместо $4 \cdot 15 = 60$ мг плотной агаризованной питательной среды);

повышение объективности анализа, поскольку при импедансном анализе, по сравнению со стандартным культуральным методом, уменьшается ошибка, возникающая вследствие неравномерного распределения пробы по дну чашки Петри, которое может приводить к

слиянию колоний микроорганизмов, вырастающих в процессе анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. И. Зварич, М. В. Стасевич, О. В. Станько и др., *Хим.-фарм. журн.*, **48**(9), 20 – 24 (2014); *Pharm. Chem. J.*, **48**(9), 582 – 586 (2014).
2. О. В. Сурикова, А. Г. Михайловский, Т. Ф. Одегова, *Хим.-фарм. журн.*, **48**(11), 15 – 17 (2014); *Pharm. Chem. J.*, **48**(11), 711 – 713 (2014).
3. М. Мадесклер, П. Кудер, А. В. Лямин и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(1), 12 – 14 (2015); *Pharm. Chem. J.*, **49**(1), 10 – 12 (2015).
4. Л. Д. Попов, С. И. Левченков, А. А. Зубенко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(1), 23 – 25 (2015); *Pharm. Chem. J.*, **49**(1), 21 – 23 (2015).
5. Л. Н. Диваева, А. И. Клименко, А. С. Морковник и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(2), 21 – 25 (2015); *Pharm. Chem. J.*, **49**(2), 91 – 95 (2015).
6. В. В. Одарюк, Н. И. Бураков, Л. В. Каниболоцкая и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(2), 26 – 28 (2015); *Pharm. Chem. J.*, **49**(2), 96 – 98 (2015).
7. М. Н. Григорьева, С. А. Стельмах, С. А. Астахова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(2), 29 – 33 (2015); *Pharm. Chem. J.*, **49**(2), 99 – 103 (2015).
8. А. С. Лабинская, *Микробиология с техникой микробиологических исследований*, Медицина, Москва (1972).
9. А. И. Коротяев, А. С. Бабичев, *Медицинская микробиология, иммунология и вирусология*, Спецлитература, Санкт-Петербург (1998).
10. А. Н. Миронов (ред.), *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, ч. 1, Гриф и К, Москва (2012).
11. В. С. Сибирцев, *Биохимия*, **70**(4), 545 – 555 (2005).
12. В. С. Сибирцев, А. В. Гарабаджиу, *Флуоресцентные ДНК-зонды: введение в теорию и практику использования*, НОУ “Экспресс”, Санкт-Петербург (2006).
13. В. С. Сибирцев, *Биохимия*, **72**(8), 1009 – 1106 (2007).
14. В. С. Сибирцев, А. В. Гарабаджиу, *Биотехносфера*, **13**(3), 9 – 14 (2011).
15. Л. А. Бессонов, *Теоретические основы электротехники*, Высшая школа, Москва (1996).
16. В. В. Кафаров, *Программирование и вычислительные методы в химии и химической технологии*, Наука, Москва (1972).
17. А. Н. Дубров, А. С. Мхатарян, Л. И. Трошин, И. В. Масленченко, *Математико-статистический анализ на программируемых микрокалькуляторах*, Финансы и статистика, Москва (1991).

Поступила 09.02.15

USING IMPEDANCE BIOTESTING METHOD FOR ESTIMATING THE ACTION OF PHARMACEUTICALS ON MICROBIAL GROWTH

V. S. Sibirtsev^{1*}, I. A. Naumov², E. E. Kuprina, and R. O. Olekhovich¹

¹ St. Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics (ITMO University), St. Petersburg, 197101 Russia

² Research and Design Institute for Marine Fleet Development and Exploitation (GiproRybFlot), St. Petersburg, 197022 Russia

* e-mail: vs1969r@mail.ru

We describe a method of studying microbial growth curves through parallel online monitoring of variations in the electric conductivity of medium in many samples, which are related to the metabolism of test microbes. Results of application of the proposed impedance biotesting method are presented for analysis of the antibacterial activity of antiseptic chlorhexidine gluconate and the catolite and anolite solutions obtained by 25-min processing of 1% NaCl and Na₂SO₄ solutions in a 2-L electrolyzer of special design at a current of $I = 7$ A and a bias voltage of $U = 28$ V.

Keywords: biotesting methods; conductometric impedance analysis of microbes; antiseptic properties; catolites; anolites; probacterial activity; antibacterial activity.