

ACȚIUNEA SINERGICĂ A ENOTANINULUI SOLUBIL ȘI A COMPUȘILOR TIOSEMICARBAZONICI ASUPRA ACTIVITĂȚII ENZIMELOR ANTIOXIDANTE ALE UNOR MICROORGANISME

Valeriu RUDIC^{1,2}, Elena ZARICIUC¹,

¹IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie

Nicolae Testemițanu,

²Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

Rezumat

Scopul cercetărilor rezultatele cărora sunt expuse în acest articol a constat în stabilirea efectului sinergic al enotaninului solubil cu compuși coordinativi, care conțin segmentul tiosemicarbazonic, asupra activității enzimelor antioxidante la *S. aureus* și *E. coli*. În calitate de obiecte de studiu au fost luate tulpinile *E. coli* ATCC®25923™ și *S. aureus* ATCC®25922™. Substanțele testate: enotantin hidrosolubil și patru compuși chimici noi ce conțin segmentul tiosemicarbazonic. Au fost aplicate metode spectrofotometrice de determinare a activității catalazei și superoxidismutazei. Combinația a 1,5 mg/l de enotantin și 1,25 mg/l de $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ a produs o diminuare cu 47,2% a activității superoxidismutazei intracelulare (față de 13,9% în cazul compusului chimic aplicat singur) și o reducere cu 71,4% a activității catalazei intracelulare (față de o scădere de mai puțin de 8% în cazul compusului chimic aplicat singur) la cultura de *S. aureus*. În cazul tulpinii de *E. coli* ATCC®25923™ cel mai semnificativ a fost efectul antibacterian amplificat la combinația dintre enotaninul solubil (1,5 mg/l) și compusul $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ (0,6 mg/l). Aplicarea concomitentă a acestor substanțe provoacă o inhibare puternică a activității enzimelor intracelulare și a catalazei extracelulare. Combinația dintre 1,5 mg/l de enotantin și 0,6 mg/l $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ poate fi un remediu eficient contra tulpinii *Escherichia coli* ATCC®25923™. Combinația dintre 1,5 mg/l enotantin solubil și 1,25 mg/l $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ are o acțiune sinergică asupra tulpinii *S. aureus* ATCC®25922™.

Cuvinte-cheie: *S. aureus*, *E. coli*, catalază, superoxidismutază, inhibare, enotantin solubil, compuși coordinativi

Summary

The synergistic effect of soluble enotanine and thiosemicarbazone on the activity of antioxidant enzymes on microorganisms

The purpose of the research presented in this article was to establish the synergistic effect of soluble enotanine with the coordination compounds containing the thiosemicarbazone segment on the activity of antioxidant enzymes in *S. aureus* and *E. coli*. The object of study was the strains *E. coli* ATCC®25923™ and *S. aureus* ATCC®25922™. Substances: water-soluble enotanine and four new chemical compounds containing the thiosemicarbazone segment. Applied methods: spectrophotometric methods for catalase and superoxide dismutase activity determination. The combination of 1,5 mg/l of enotanine and 1,25 mg/l of $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ produced a 47,2% decrease in intracellular superoxide dismutase activity (compared to 13,9% for the compound applied alone) and 71,4% of the activity of intracellular catalase (compared to a decrease of less than 8% in the case of the compound applied alone) in the culture of *S. aureus*. For *E. coli* ATCC®25923™

strain, the most significant antibiotic effect was the combination of soluble enotanine (1,5 mg/l) and $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ (0,6 mg/l). Concomitant administration of these substances causes a strong inhibition of intracellular enzyme activity and extracellular catalase. The combination of 1,5 mg/l of enotanine and 0,6 mg/l of $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ may be an effective remedy against the strain *E. coli* ATCC®25923™. The combination of 1,5 mg/l soluble enotanine and 1,25 mg/l $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ has synergistic activity against the strain *S. aureus* ATCC®25922™.

Keywords: *S. aureus*, *E. coli*, catalase, superoxide dismutase, inhibition, soluble enotanine, coordination compounds

Резюме

Синергическое действие растворимого энотанина и тиосемикарбазона на активность антиоксидантных ферментов у некоторых микроорганизмов

Целью исследования, результаты которого изложены в данной статье, было установить синергетический эффект растворимого энотанина и координационных соединений, содержащих сегмент тиосемикарбазона, на активность антиоксидантных ферментов у *S. aureus* и *E. coli*. Объектами исследования были штаммы *E. coli* ATCC®25923™ и *S. aureus* ATCC®25922™. Испытуемые вещества – водорастворимый энотанин и четыре новых химических соединения, содержащих сегмент тиосемикарбазона. Использованы спектрофотометрические методы определения активности каталазы и супероксиддисмутазы. Сочетание 1,5 мг/л энотанина и 1,25 мг/л $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ вызвало уменьшение активности внутриклеточной супероксиддисмутазы на 47,2% (по сравнению с 13,9% для химического соединения, применяемого отдельно) и на 71,4% активности внутриклеточной каталазы (по сравнению со снижением менее чем на 8% в случае химического соединения, применяемого отдельно) в культуре *S. aureus*. Для штамма *E. coli* ATCC®25923™ наиболее значимым антибиотическим эффектом обладала комбинация растворимого энотанина (1,5 мг/л) и $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ (0,6 мг/л). Одновременное применение этих веществ вызывает сильное ингибирование внутриклеточной активности антиоксидантных энзим и внеклеточной каталазы. Комбинация 1,5 мг/л энотанина и 0,6 мг/л $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ может быть эффективным средством против штамма *E. coli* ATCC®25923™. Комбинация 1,5 мг/л растворимого энотанина и 1,25 мг/л $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ обладает синергетической активностью в отношении штамма *S. aureus* ATCC®25922™.

Ключевые слова: *S. aureus*, *E. coli*, каталаза, супероксиддисмутаза, ингибирование, растворимый енотанин, координационные соединения

Introducere

Staphylococcus aureus este unul dintre principalii patogeni umani, care provoacă o gamă largă de infecții clinice. Este o cauză principală a bacteriemiei și a endocarditei infecțioase, precum și a infecțiilor pleuropulmonare, osteoarticulare, cutanate și ale țesuturilor moi. În ultimele două decenii, tot mai dese au devenit implicările acestui patogen în infectarea endoprotezelor umane [13].

Bacteremiile provocate de *S. aureus* de cele mai multe ori provoacă complicații (în circa 53% cazuri) care duc la maladii severe, având ca rezultat o morbiditate și o mortalitate foarte înalte [6, 15].

Escherichia coli este de asemenea un agent patogen foarte răspândit, implicat în multiple infecții, cum ar fi infecțiile căilor urinare, diareea călătorului, meningita neonatală și pneumonia [5, 6]. Ca și *S. aureus*, *E. coli* provoacă bacteriemii și sepsis, deosebit de periculoase în special pentru copii și vârstnici.

Ambii agenți patogeni posedă un arsenal bogat de factori de virulență, principalii fiind toxinele și sistemul enzimatic extra- și intracelular. Printre factorii enzimatici de patogenitate ai acestor patogeni, un rol foarte important le revine enzimelor antioxidante. Activarea acestora este determinată de faptul că în procesul invaziei patogenilor în corpul macroorganismului atacat, acesta din urmă elimină activ specii reactive ale oxigenului, care au o funcție bactericidă prin distrugerea ADN-ului, a lipidelor, a proteinelor și a membranei microorganismului. Pentru a supraviețui și a-și păstra capacitatea de invazie, patogenul trebuie să contracareze efectele stresului oxidativ declanșat. Catalaza și superoxiddismutaza sunt două enzime de bază, pe care microorganismele patogene le utilizează intra- și extracelular în scopul anihilării radicalilor liberi și a moleculelor reactive eliminate de celulele și țesuturile macroorganismului [14]. Efectele pozitive ale superoxiddismutazei și catalazei în rezistența patogenilor contra mecanismelor de protecție ale gazdei au fost înregistrate atât in vitro, cât și in vivo [3].

Datorită acestor factori de virulență, patogenii, în special formele lor rezistente la acțiunea antibioticelor, evită acțiunea sistemului imun al macroorganismului atacat, conducând la infecții cronice și inflamații de lungă durată. Ca urmare, însănătoșirea pacienților este puternic întârziată, deoarece infecțiile inițial ușoare se dezvoltă în infecții invazive și septicemie.

Mai multe substanțe – atât chimice, cât și naturale – care posedă acțiune bacteriostatică și bactericidă produc fluctuații semnificative ale nivelului de

activitate a enzimelor antioxidante bacteriene intra- și extracelulare. De exemplu, nanofierul zero-valent provoacă dereglarea producerii tuturor formelor de superoxiddismutază și catalază la *E. coli* [5]. Sub influența 2-(2-nitrovinil) furanului a fost observată o creștere semnificativă a activității superoxiddismutazei și a catalazei atât la *E. coli*, cât și la *S. aureus* [2].

În cercetările anterioare a fost demonstrat că enotaninul solubil și o serie de compuși ce conțin segmentul tiosemicarbazonic inhibă activitatea superoxiddismutazei și catalazei la *E. coli* și *S. aureus*. Un inhibitor eficient al activității enzimatică la aceste două specii este cloro-{N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(2-hidroksifenil) etiliden]-hidrazincarbonat-amido(1-)} nichel, care în concentrație de 0,4 μg/ml elimină complet activitatea catalazei extracelulare și o inhibă cu peste 70% pe cea a catalazei intracelulare [17].

Este cunoscut faptul că în multe cazuri poate fi obținut un efect sinergic pe calea combinării a doi sau mai mulți agenți antimicrobieni. Astfel, a fost demonstrat efectul antibacterian sinergic contra *S. aureus* al extractelor din scorțișoară, guava și lemongrass cu 18 antibiotice [4]. Curcuminul are efect sinergic cu ampicilina, ciprofloxacină și norfloxacină, reducând esențial concentrațiile minim inhibitoare ale acestor antibiotice față de *S. aureus* rezistent la metilicilină [11]. Atunci când sunt combinate amoxicilina și nanoparticulele de argint, rezultă o eficiență bactericidă mai mare asupra celulelor de *E. coli* decât atunci când componentele sunt aplicate separat [9].

Având în vedere cele menționate, **scopul** cercetărilor rezultatele cărora sunt expuse în acest articol a constat în stabilirea efectului sinergic al enotaninului solubil cu compuși activi ce conțin segmentul tiosemicarbazonic asupra activității enzimelor antioxidante la *S. aureus* ATCC® 25923™ și *E. coli* ATCC 25922.

Material și metode

Pentru cercetare au fost selectate cinci substanțe cu proprietăți antimicrobiene:

- *enotaninul hidrosolubil*, obținut prin oxidarea enotaninului insolubil în apă, extras din semințele de struguri;
- *doi derivați noi ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic*;
- *metil-N'-[(2-hidroksinaftalen-1-il)metiliden]-N-prop-2-en-1-ilhidrazonotioat*;
- *cloro-{N-(3,4-dimetilfenil)-2-[1-(2-hidroksifenil) etiliden]-hidrazincarbonat-amido(1-)}nichel*.

În calitate de microorganisme de referință au fost utilizate următoarele tulpini:

- *E. coli* ATCC 25922.
- *S. aureus* subsp. *aureus* ATCC® 25923™.

Incubarea culturilor microbiene cu substanțele antibacteriene. Pentru creșterea culturilor bacteriene a fost utilizat mediul standardizat – 2% bulion peptonat, pH =7,0.

Obținerea lichidului de cultură și a extractului celular. Celulele se separă de mediul nutritiv prin centrifugare la 6000 g timp de 5 min. Extractul celular se obține din sedimentul celular cu utilizarea bilelor din sticlă conform descrierii prezentate de Saxena S. și Gomber C. [12].

Pentru determinarea catalazei (CAT) a fost aplicată metoda spectrofotometrică propusă de Aebi în 1984 [1].

Activitatea superoxiddismutazei (SOD) a fost determinată conform principiului bazat pe capacitatea enzimei de a inhiba reacțiile fotochimice de reducere a nitrobluetetrazoliului după metoda propusă de Giannopolitis și Ries în 1977 [7], cu modificările ulterioare [10].

Toate experiențele au fost efectuate în trei repetări. Valorile prezentate în articol sunt înscrise în formă de media ± deviația-standard. Veridicitatea deosebirilor dintre date a fost verificată prin aplicarea testului Student.

Rezultate obținute

Tabelul 1

Activitatea enzimatică a *S. aureus* ATCC®25922™ la interacțiunea culturii cu enotaninul solubil și derivații noi ai acidului 4-formil-3-hidroxi-2-naftoic, % față de martor (cultura netratată)

Compusul, concentrația	Activitatea enzimelor extracelulare, %M		Activitatea enzimelor intracelulare, %M	
	SOD	CAT	SOD	CAT
Enotanin hidrosolubil (Eh), mg/l				
0,75	84,0±5,6	93,6±6,5	122,0±6,5	144,2±15,9
1, 50	33,8±4,2	28,6±2,8	126,7±2,8	140,4±14,7
3,00	34,6±5,2	26±1,8	63,7±1,8	51,5±4,7
C ₁₃ H ₁₁ N ₃ SO ₃ •CH ₃ OH (Cc1), mg/l				
0,60	62,8±2,6	36,8±0,5	124,4±4,2	146,0±2,9
1,25	54,6±2,4	21,4±3,2	86,1±2,6	92,8±1,4
2,5	46,5±4,2	20,9±2,3	38,3±3,5	50,8±0,8
C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ₃ S(Cc2),mg/l				
0,15	43,2±2,8	45,8±3,4	74,6±2,2	60,4±3,0
0,30	22,8±0,9	12,5±3,1	46,8±2,8	39,5±0,6
0,60	6,3±1,1	0	39,5±0,6	12,8±1,8
Enotanin hidrosolubil +C ₁₃ H ₁₁ N ₃ SO ₃ •CH ₃ OH, mg/l				
1,50 Eh + 1,25 Cc1	38,6±4,3	25,4±2,7	52,8±3,9 ^{a,b*}	28,6±4,1 ^{a,b*}
Enotanin hidrosolubil + C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ₃ S,				
1,50 Eh + 0,3 Cc2	26,3±3,2	15,8±3,8	40,4±4,7	41,5±4,4

Notă. ^a – diferență veridică (P<0,001) față de concentrația de 1,5 mg/l de enotanin; ^b – diferență veridică (P<0,001) față de concentrația de 1,25 mg/l de C₁₃H₁₁N₃SO₃•CH₃OH.

Tabelul 2

Activitatea enzimatică a *E. coli* ATCC®25923™ la interacțiunea enotaninului solubil și a compușilor chimici noi ce conțin segmentul tiosemicarbazonic, % față de martor (cultura netratată)

Compusul, concentrația	Activitatea enzimelor extracelulare, %M		Activitatea enzimelor intracelulare, %M	
	CAT	SOD	CAT	SOD
Enotanin hidrosolubil (Eh), mg/l				
0,75	148,5±7,2	108,6±2,8	130,1±0,75	115,9±7,2
1,5	112,6±9,1	144±6,4	127,5±1,5	129,4±9,1
3,0	60,8±3,6	38,6±3,7	38,6±3,0	44,5±3,6
C ₁₃ H ₁₁ N ₃ SO ₃ •CH ₃ OH (Cc1), mg/l				
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
C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ₃ S (Cc2),mg/l				
0,60	84,2±3,8	90,4±2,4	112,5±4,3	138,1±5,6
1,25	72,1±3,8	85,2±3,6	111,6±1,9	97,4±5,1
2,50	52,6±1,3	44,9±3,3	67,5±4,2	38,4±4,6
C ₁₆ H ₁₇ N ₃ OS (Cc3) mg/ml				
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
C ₁₇ H ₁₈ ClN ₃ NiOS (Cc4) μg/ml				
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
Enotanin hidrosolubil, mg/l + C ₁₃ H ₁₁ N ₃ SO ₃ •CH ₃ OH (Cc1), mg/l				
1,50 Eh + 0,6 Cc1	52,2±4,3 ^{a,b*}	49,4±6,1	45,7,8±4,5 ^{a,b*}	51,6±5,8 ^{a,b*}
Enotanin hidrosolubil , mg/l + C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O ₃ S (Cc2), mg/l				
1,50 Eh + 1,25 Cc2	75,3±4,1	88,4±5,0	38,5±2,6 ^{a,c*}	95,3±5,2
Enotanin hidrosolubil, mg/l + C ₁₆ H ₁₇ N ₃ OS (Cc3), mg/l				
1,50 Eh + 0,12 Cc3	35,4±1,7	26,3±3,5	38,9±4,2	20,5±3,7
Enotanin hidrosolubil, mg/l + C ₁₇ H ₁₈ ClN ₃ NiOS, μg/l				
1,50 Eh + 0,8 Cc4	0	0	0	0

Notă. ^a – diferență veridică (P<0,001) față de concentrația de 1,5 mg/l de enotanin; ^b – diferență veridică (P<0,001) față de concentrația de 0,6 mg/l de C₁₃H₁₁N₃SO₃•CH₃OH; ^c – diferență veridică (P<0,001) față de concentrația de 1,25 mg/l de C₁₉H₁₅N₃O₃S.

Discuții

Activitatea enzimelor antioxidante exocelulare sub acțiunea concentrațiilor aplicate de enotanin solubil scade într-o manieră dependentă de concentrație la *S. aureus* ATCC®25922™. În cazul enzimelor intracelulare, concentrațiile mai joase decât cea minim inhibitoare duc la o creștere semnificativă a activității catalazei și superoxiddismutazei la stafi-

lococ, pe când concentrația înaltă de enotanin (3,0 mg/ml) a provocat o scădere pronunțată a activității acestora.

Ambii compuși chimici testați în scopul inhibării activității enzimelor antioxidante la stafilococ au provocat o scădere semnificativă a activității exoenzimelor. Endoenzimele au fost inhibitate de concentrațiile de 2,5 mg/l de $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ și de toate concentrațiile celui de al doilea compus – $C_{19}H_{15}N_3O_3S$, mg/ml.

Pentru cultura de *S. aureus* ATCC®25922™ au fost testate două variante de combinații, în cadrul cărora celulele au fost tratate cu enotanin și unul din compuși, toate substanțele fiind luate în concentrații medii aplicate în experiență. Efect sinergic a fost observat doar în cazul aplicării concomitente a cantității de 1,5 mg/l de enotanin și 1,25 mg/l de $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ și doar pentru enzimele intracelulare. Enotaninul în concentrația menționată a dus la creșterea activității acestor enzime, iar adăugarea compusului chimic aparte a produs o reducere ușoară a activității enzimaticice. Combinația acestor două substanțe produce o diminuare cu 47,2% a activității superoxid-dismutazei intracelulare (față de 13,9% în cazul compusului chimic aplicat aparte) și o reducere cu 71,4% a activității catalazei intracelulare (față de o scădere de mai puțin de 8% în cazul compusului chimic aplicat aparte).

În cazul tulpinii *E. coli* ATCC®25923™, la adăugarea enotaninului se atestă o creștere semnificativă a activității extracelulare a catalazei (la concentrația de 0,75 mg/ml) și a superoxid-dismutazei (la concentrația de 1,50 mg/ml). În schimb, concentrația de 3 mg/ml duce la o scădere simțitoare a activității superoxid-dismutazei și catalazei. Enzimele intracelulare au fost inhibitate de concentrația de 3,0 mg/l și stimulate de concentrațiile mici. Compușii chimici testați au influențat în diferit mod activitatea enzimelor antioxidante. Primul compus în concentrație de 1,2 mg/ml inhibă cu 40-73% activitatea catalazei și superoxid-dismutazei, atât intracelulare, cât și extracelulare. Concentrația de 0,6 mg/ml are efecte nocive asupra activității enzimelor extracelulare, pe când activitatea enzimelor intracelulare nu se modifică.

Cel de-al doilea compus cu formula $C_{19}H_{15}N_3O_3S$ în cea mai înaltă concentrație aplicată de 2,5 mg/ml inhibă activitatea catalazei și superoxid-dismutazei. Totodată, cu până la 61% față de martor, iar concentrațiile mai mici au un efect mai slab de inhibiție sau chiar efect de stimulare. Compușii $C_{16}H_{17}N_3OS$ și $C_{17}H_{18}ClN_3NiOS$ au o acțiune de inhibiție foarte pronunțată. Astfel, aplicarea concentrațiilor minime de inhibiție duce la inhibarea completă a activității enzimaticice antioxidante.

În cazul tulpinii de *E. coli* ATCC®25923™ au fost testate patru combinații de substanțe antibacteriene, în toate fiind prezent enotaninul în concentrație de 1,5 mg/l. În trei dintre acestea a fost observat fenomenul de sinergism al acțiunii substanțelor testate. Cel mai semnificativ a fost efectul antibacterian amplificat în cazul combinației dintre enotaninul solubil și compusul $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$. La aplicarea enotaninului singur în concentrația de 1,5 mg/l se atestă o creștere a activității SOD și CAT atât în celule, cât și în mediul extracelular, iar compusul chimic produce o inhibare doar a enzimelor extracelulare (activitatea CAT se reduce cu 23,2% și cea a SOD – cu 47,4%). Aplicarea concomitentă a acestor substanțe provoacă o inhibare puternică a activității enzimelor intracelulare (activitatea CAT scade cu 54,3%, iar cea a SOD – cu 48,4%). De asemenea, un efect sinergic de inhibare avem și în cazul activității catalazei extracelulare, activitatea căreia scade cu 47,8% față de 23,2% în cazul compusului aplicat aparte).

De asemenea, un efect sinergic a fost prezent și la aplicarea combinației de enotanin cu compusul $C_{19}H_{15}N_3O_3S$. Combinația dată provoacă un efect augmentat doar asupra activității catalazei intracelulare, provocând o reducere cu 61,5%, comparativ cu 10,6% în cazul compusului aplicat aparte.

Combinația dintre enotanin și $C_{16}H_{17}N_3OS$ a dus la inhibarea totală a activității enzimaticice CAT și SOD la *E. coli*, deși compusul aparte inhibă total doar catalaza extracelulară, iar enotaninul duce la activarea enzimelor studiate.

Concluzii

Enotaninul solubil și compusul $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ au acțiune sinergică de inhibare a activității enzimelor antioxidante superoxid-dismutaza și catalaza la *S. aureus* ATCC®25922™. Combinarea acestor două substanțe în concentrații ce constituie ½ din CMI pentru fiecare tulpină produce un efect pronunțat de inhibare a activității CAT și SOD intracelulare la ambele culturi, iar în cazul tulpinii *E. coli* ATCC®25923™ sporește suplimentar gradul de inhibare a catalazei extracelulare.

Combinația dintre 1,5 mg/l de enotanin și 0,6 mg/l $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ poate fi un remediu eficient contra tulpinii *E. coli* ATCC®25923™.

Combinația dintre 1,5 mg/l enotanin solubil și 1,25 mg/l $C_{13}H_{11}N_3SO_3 \cdot CH_3OH$ are acțiune sinergică față de tulpina *S. aureus* ATCC®25922™.

Bibliografie

1. Abei H. Catalase in vitro. In: *Methods Enzimol.*, 1984, nr. 105, pp. 121-126.
2. Ajiboye T.O., Naibi A.M., Abdulazeez I.O., et al. Involvement of oxidative stress in bactericidal activity of 2-(2-nitrovinyl) furan against *Escherichia coli*,

- Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. In: *Microb. Pathog.*, 2016, nr. 91, pp. 107–114.
3. Beavers W.N., Skaar E.P. Neutrophil-Generated Oxidative Stress and Protein Damage in Staphylococcus aureus. In: *Pathog. Dis.*, 2016, nr. 74 (6): pii. ftw060.
4. Betoni J.E.C., Mantovani R.P., Barbosa L.N., et al. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on Staphylococcus aureus diseases. In: *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006, nr. 101(4), pp. 387–390.
5. Chaithawiwat K., Vangnai A., McEvoy J.M., et al. Role of Oxidative Stress in Inactivation of Escherichia Coli BW25113 by Nanoscale Zero-Valent Iron. In: *Sci. Total Environ.*, 2016, Sep. 15, nr. 565, pp. 857–862.
6. de Kraker M.E., Davey P.G., Grundmann H. Mortality and hospital stay associated with resistant Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. In: *PLoS Med.*, 2011, nr. 8 (10): e1001104.
7. Giannopolitis C.N., Ries S.K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. In: *Plant Physiol.*, 1972, nr. 59(2), pp. 309–314.
8. Keynan Y., Rubinstein E. Staphylococcus aureus bacteremia, risk factors, complications, and management. In: *Crit. Care Clin.*, 2013, nr. 29(3), pp. 547–552.
9. Li P., Li J., Wu C., et al. Synergistic antibacterial effects of β -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. In: *Nanotechnology*, 2005, nr. 16(9), pp. 1912–1917.
10. Lozan-Tîrșu C. *Efecte antimicrobiene ale unor substanțe chimice din produse autohtone*. Teză dr. șt. med. Chișinău, 2016. 167 p.
11. Mun S.H., Joung D.K., Kim Y.S., et al. Synergistic antibacterial effect of curcumin against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. In: *Phytomedicine*, 2013, nr. 20(8-9), pp. 714–718.
12. Saxena S., Gomber Ch. Superoxide dismutase, protease and lipase expression in clinical isolates of Staphylococcus aureus: a tool for antimicrobial drug discovery. In: *Mol. Cell. Biochem.*, 2010, nr. 341(1-2), pp. 217–223.
13. Tong S.Y.C., Davis J.S., Eichenberger E., et al. Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. In: *Clin. Microbiol. Rev.*, 2015, nr. 28(3), pp. 603–661.
14. Wan B., Zhanq Q., Ni J., et al. Type VI Secretion System Contributes to Enterohemorrhagic Escherichia Coli Virulence by Secreting Catalase against Host Reactive Oxygen Species (ROS). In: *PLoS Pathog.*, 2018, nr. 13 (3): e1006246.
15. Yilmaz M., Elaldi N., Balkan İ., et al. Mortality Predictors of Staphylococcus Aureus Bacteremia: A Prospective Multicenter Study. In: *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 2016, nr. 15(1), p. 7.
16. Zariciuc E. Activitatea antimicrobiană in vitro a unor compuși autohtoni noi. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2017, nr. 2(332), pp. 146–153.
17. Zariciuc E. Influența unor compuși chimici noi asupra proceselor enzimactice la Escherichia coli și Staphylococcus aureus. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții*. 2018, nr. 2(332), pp. 151–159.
18. Zariciuc E., Savina-Grosu A., Rudic V., ș.a. Studiul activității antibacteriene și antifungice a enoxilului. In: Duca G., editor. *Produse vinicole secundare*. Chișinău: Știința, 2011, pp. 178–184.

Elena Zariciuc, asistent universitar,
IP USMF Nicolae Testemițanu,
tel.: 069077957,
e-mail: erusnac@yahoo.com