

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ МОДИФИКАЦИЙ
ПОЛИАЗОЛИДИНАММОНИЯ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ
ГИДРАТ-ИОНОВ ЙОДА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса 422 группы
направления 06.03.01 Биология
биологического факультета
Зубовой Ксении Валерьевны

Научный руководитель

доцент кафедры микробиологии

и физиологии растений, к.б.н., доцент _____ Н. Ф. Шуршалова

Зав. кафедрой микробиологии

и физиологии растений, д.б.н., профессор _____ С. А. Степанов

Саратов 2017

Введение

Актуальность темы. В современном мире существует разнообразное количество веществ, призванных бороться с патогенными микроорганизмами. Но большинство современных антибиотиков негативно влияют на нормальную микрофлору и весь организм в целом. Или при минимальном вреде для организма имеют слабую активность и медленный эффект действий. Огромной проблемой является и антибиотикорезистентность. Механизмы устойчивости обычно связаны с модификацией структуры бактериальной клеточной стенки, экспрессией генов, ответственных за активность клеточных насосов, изменением в структуре мишеней для антибиотиков или возникновением новых мишеней и ферментативной модификацией самой структуры антибиотика. Одним из перспективных путей преодоления лекарственной устойчивости микроорганизмов является поиск и внедрение в практику новых антибактериальных веществ, в том числе с отличным от широко применяемых антибиотиков строением и механизмом действия [1].

Поэтому особое внимание уделяется новым биосовместимым полимерным соединениям, имеющим очень важное значение в химии живых существ.

В связи с этим широкое изучение и поиск новых полимерных соединений, обладающих антибактериальной активностью по отношению к различным микроорганизмам, является актуальной задачей, определившей необходимость проведения настоящего исследования и позволившей сформулировать его цель и задачи.

Цель и задачи исследования. Целью нашей работы явилось изучение антимикробной активности модификации полиазилидинаммония с гидрат-ионами йода (ПААГ-М) и двух йодсодержащих лекарственных препаратов йодиола и повидон-йода.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Изучить антимикробную активность полимера ПААГ-М на модели стандартных тест-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий.
2. Определить антимикробную активность йодиола и повидон-йода с различными концентрациями йода в отношении исследуемых штаммов микроорганизмов.
3. Провести сравнительный анализ антимикробной активности полимера ПААГ-М с йодиолом и повидон-йодом.

Материалы и методы. Работа была выполнена на кафедре микробиологии и физиологии растений СГУ имени Н. Г. Чернышевского.

В работе в качестве экспериментальных моделей по изучению антимикробной активности нового полимера были использованы стандартные тест-штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Объектом исследования явился препарат на основе биосовместимого полимера полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода (ПААГ-М), синтезированный сотрудниками кафедры информационной безопасности автоматизированных систем Саратовского государственного технического университета имени Ю. А. Гагарина. Данное соединение представляет собой неограниченно растворимый в воде биополимер с молекулярной массой 100 кДа, и содержанием йода 5 мкг/мл [2]. По результатам ранее проведенных комплексных токсикологических испытаний он был отнесен к IV классу токсичности [3].

Работу проводили с экспериментальным препаратом на основе полиазолидинаммония (ПААГ-М), который называется «Константа» медицинская версия. Медицинская версия «Константа» (20% йодсодержащий полимер), с молекулярной массой 100 кДальтон и содержанием гидрат-ионов йода 5 мкг/мл используется как стабилизатор прополиса.

Так же в работе использовали два широко применяемых в медицинской практике лекарственных препарата, таких как йодиол и повидон-йод.

Определение чувствительности ко всем исследуемым вариантам полимера и двух других взятых нами веществ проводили методом двукратных серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона, содержащих различные концентрации изучаемых соединений. Определяли минимальную подавляющую концентрацию всех исследуемых соединений. Определение бактерицидного или бактериостатического действия соединений проводили высевом из всех опытных пробирок в чашки Петри на поверхность плотной питательной среды – агар Мюллера-Хинтона [4].

Структура и объем работы. Диплом изложен на 54 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа включает 14 рисунков, 7 таблиц. Список использованных источников включает в себя 45 наименований.

Основное содержание работы

На первом этапе работы была изучена антимикробная активность биосовместимого полимера «Константа» (медицинская версия) (20% йод-содержащий полимер), с молекулярной массой 100 кДальтон и содержанием гидрат-ионов йода 5 мкг/мл, с разными концентрациями на модели стандартных тест-штаммов бактерий. Исходный полимер разводили и брали различные концентрации – большие концентрации от 1000 до 4 мкг/мл и малые от 200 до 0,75 мкг/мл.

Для первичного исследования использовали стандартные тест-штаммы бактерий *Escherichia coli* 113-13, *Staphylococcus aureus* 209 P, *Bacillus cereus* 8035. Штамм *E. coli* 113-13 является представителем грамотрицательных палочек, *S. aureus* 209 P – грамположительных кокков, *B. cereus* 8035 – грамположительных спорообразующих палочек.

Результаты проведенных экспериментов показали, что все рабочие концентрации препарата оказали бактерицидное действие на все три стандартных тест-штамма бактерий. Нам не удалось установить значение

минимальной подавляющей концентрации изучаемого образца, поэтому в дальнейшей работе было принято решение использовать малые рабочие концентрации препарата – от 200 до 0,75 мкг/мл.

В ходе проведенной работы было установлено, что препарат «Константа» (медицинская версия) в малых концентрациях проявлял различное антимикробное действие по отношению к стандартным тест-штаммам бактерий. Значение МПК для *E. coli* 113-13 составило 125 мкг/мл при содержании йода 0,003 мкг/мл, для *S. aureus* 209 P показатель МПК составил 6 мкг/мл ($J_2=0,0015$ мкг/мл). Для *B. cereus* 8035 – 3 мкг/мл ($J_2=0,00075$ мкг/мл). Причем при всех значениях МПК изучаемый препарат проявлял бактерицидное действие на все исследуемые тест-культуры бактерий.

Медицинская версия «Константа» на основе полимера ПААГ-М, характеризовалась самым эффективным антибактериальным действием в отношении грамположительных бактерий – *S. aureus* 209 P и *B. cereus* 8035

Таким образом, на первом этапе работы была изучена антибактериальная активность «Константы» (медицинская версия) по отношению к стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий.

На втором этапе работы была изучена антимикробная активность двух широко используемых йодсодержащих препаратов на модели стандартных тест-штаммов микроорганизмов.

В ходе проведения исследований было установлено, что йодиол и повидон-йод в разных концентрациях оказывают различное действие на стандартные тест-культуры.

При больших концентрациях повидон-йода значения МПК для *E. coli* 113-13 составили 0,8 мг/мл при содержании $J_2 = 0,08$ мг/мл. МПК для *S. aureus* 209 P и *B. cereus* 8035 – 0,4 мг/мл ($J_2 = 0,04$ мг/мл).

При малых концентрациях повидон-йода показатель МПК составил для *E. coli* 113-13 и *S. aureus* 209 P – 0,625 мг/мл и $J_2 = 0,062$ мг/мл, для *B. cereus* 8035 – 1,25 мг/мл и $J_2 = 0,12$ мг/мл.

При больших концентрациях йодиола летальность для стандартных тест-культур была следующая: *E. coli* 113-13 – 12,5 мкг/мл при содержании $J_2 = 6,25$ мг/мл; *S. aureus* 209 P – 50 мкг/мл и $J_2 = 25$ мг/мл; *B. cereus* 8035 – 25 мкг/мл и $J_2 = 12,5$ мг/мл.

При низких концентрациях йодиола не проявлял антимикробного действия на стандартные тест-штаммы бактерий.

Таким образом, на втором этапе работы была установлена минимальная подавляющая концентрация для повидон-йода и йодиола по отношению к стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий.

На заключительном этапе работы было проведено сравнение биосовместимого полимера «Константа» (медицинская версия) и двум йодсодержащим препаратам – повидон-йод и йодиола в различных концентрациях.

В ходе проведенного исследования было установлено, что большие концентрации полиазолидинаммония (медицинской версии «Константа») оказывают бактерицидное действие на все стандартные тест-штаммы бактерий. При опыте с низкими концентрациями, наблюдали различную летальность для данных штаммов при его низком содержании в среде. При низких концентрациях данный полимер оказывал наибольшее воздействие на грамположительные бактерии – *B. cereus* 8035 и *S. aureus* 209 P. Причем на все исследуемые тест-штаммы медицинская версия «Константа» оказывала бактерицидное действие.

Два других исследуемых нами йод-содержащих лекарственных препарата показали менее эффективное антибактериальное действие на исследуемые тест-культуры. Во время опыта с большими концентрациями повидон-йода было установлено, что МПК для данных штаммов лежит в

приделах от 0,8 мг/мл при $J_2 = 0,08$ мг до 0,4 мг/мл и $J_2 = 0,04$ мг. При малых концентрациях повидон-йода летальные концентрации для *E. coli* 113-13 и *S. aureus* 209 P составили 0,625 мг/мл при содержании йода 0,062 мг/мл. Для *B. cereus* 8035 – 1,25 мг/мл ($J_2 = 0,12$ мг/мл). Наибольшей эффективностью повидон-йод обладал по отношению к грамположительным микроорганизмам – в первую очередь *S. aureus* 209 P, а также *B. cereus* 8035.

Другой лекарственный препарат, йодиол, при опыте с большими концентрациями показал следующий результат. Показатель МПК для *E. coli* 113-13 составил 12,5 мкг/мл при концентрации $J_2 = 6,25$ мг/мл; для *S. aureus* 209 P – 50 мкг/мл ($J_2 = 25$ мг); для *B. cereus* 8035 – 25 мкг/мл ($J_2 = 12,5$ мг/мл). При малых рабочих концентрациях йодиол не проявлял антимикробного действия на все три тест-культуры. Таким образом, мы можем сказать, что йодиол крайне неэффективен для борьбы с грамотрицательными и грамположительными бактериями.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что «Константа» (медицинская версия) на основе биополимера полиазолидинаммония, показал себя как эффективный бактерицидный препарат, летальный как для грамотрицательных бактерий, так и для грамположительных бактерий при низких и высоких концентрациях. Два лекарственных препарата повидон-йода и йодиол, оказывали не такое значительное антибактериальное действие и наиболее эффективны лишь при высоких концентрациях.

Заключение

В связи с широким применением полимеров в медицине и биологии в целом был расширен круг задач, а так же найдено решение множества теоретических и практических задач. Использование медицинских полимеров для изготовления хирургических инструментов и оборудования (шприцы и системы для переливания крови разового использования, бактерицидные пленки, нити, клетки) коренным образом изменило и усовершенствовало технику медицинского обслуживания [5].

Использование полимеров в биологии для очистки вод, для композиционные сорбенты для биосепарации; модельные мембраны на основе монослоев и липосом; дисперсные иммунодиагностикумы; системы для микрокапсулирования ферментов и клеток; системы для гибридизационного анализа. Все это позволило медицине и биологии подняться на качественно новый уровень в поисках новых путей решения разнообразных задач. Так, потребность в высокочистых концентрированных препаратах биологически активных соединений, в первую очередь, биополимеров (нуклеиновых кислот и белков), привела к созданию ряда эффективных сорбционных композиционных материалов (сорбентов), объединяющих превосходные механические качества жесткого нерастворимого носителя с уникальными сорбционными свойствами полимерных модификаторов (в первую очередь, фторполимеров и полианилинов) [6]. Как известно, в силу определенных свойств (таких, например, как набухаемость, мягкость, низкая растворимость или, наоборот, нестабильность и т.д.) большинство синтетических полимерных материалов непригодны для непосредственного использования их в качестве «хороших» сорбентов. Поэтому с практической точки зрения применение полимерных модификаторов при получении композиционных материалов представляется оптимальным вариантом.

Так же с помощью полимеров были созданы различные лекарственные вещества, отличающиеся от имеющихся рядом показателей и значительно превосходящих по эффективности. Они легко всасываются, обладают пролонгированным действием, так же они гипоаллергенные и биологически инертны. С помощью синтеза различных веществ мы можем создавать новые, улучшенные препараты, при этом минимизировав возможный вред для организма и избегая резистентности микроорганизмов к тем или иным лекарственным веществам [7].

Высокой антимикробной активностью характеризуются полимерные соединения. В настоящее время создаются экспериментальные препараты,

представляющие собой модифицированные полимерными соединениями аналоги современных антибиотиков, что позволяет преодолеть возникшую к ним устойчивость микроорганизмов [6].

Одним из перспективных полимерных соединений с высокой антимикробной активностью является полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода. В этой связи необходимо было изучить антимикробные свойства ПААГ-М, а так же провести сравнительный анализ его с двумя широко известными йодсодержащими препаратами – йодиолом и повидон-йодом. В данной работе необходимо учитывать так же биологические особенности штаммов микроорганизмов, например таких как строение их клеточной стенки.

Учитывая вышеизложенное, была поставлена цель изучить антимикробную активность модификации полиазолидинаммония с гидрат-ионами йода и двух йодсодержащих препаратов йодиола и повидон-йода.

На первом этапе работы изучили антимикробную активность полиазолидиламмония, представленного медицинской версией «Константа» в двух разных концентрациях, с молекулярной массой 100 кДальтон и содержанием ионов йода 5 мкг/мл на модели стандартных тест-культур микроорганизмов.

В ходе проведенных исследований было установлено, что все рабочие концентрации полимерного соединения проявляли различную антибактериальную активность по отношению ко всем стандартным тест-штаммам микроорганизмов.

На втором этапе работы были проведены исследования и установлена антибактериальная активность йодиола и повидон-йода в малых и больших концентрациях.

В ходе исследований определили минимальную подавляющую концентрацию как для исходного полимера, так и для двух препаратов. Так же в заключении мы сравнили антибактериальную активность и сделали вывод об эффективности исследуемых нами веществ.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что «Константа» (медицинская версия) на основе биополимера полиазолидинаммония, показал себя как эффективный бактерицидный препарат, летальный как для грамотрицательных бактерий, так и для грамположительных бактерий при низких и высоких концентрациях. Два лекарственных препарата повидон-йода и йодиол, оказывали не такое значительное антибактериальное действие и наиболее эффективны лишь при высоких концентрациях.

Выводы

1. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) полиазолидинаммония (ПААГ-М) при содержании йода от 0,25 до 0,001 мкг/мл для всех штаммов составили 0,001 мкг/мл. При содержании йода от 0,05 до 0,0002 мкг/мл МПК для *Staphylococcus aureus* 209 P составила 0,0015 мкг/мл; для *Bacillus cereus* 8035 – 0,00075 мкг/мл, а для *Escherichia coli* 113-13 – 0,003 мкг/мл. При данных концентрациях проявляется бактерицидное действие вещества.

2. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) повидон-йода при содержании йода от 5 до 0,02 мг/мл для *Staphylococcus aureus* 209 P и *Bacillus cereus* 8035 составили 0,04 мг/мл, а для *Escherichia coli* 113-13 – 0,08 мг/мл. При содержании йода от 0,5 до 0,002 мг/мл МПК для *Escherichia coli* 113-13 и *Staphylococcus aureus* 209 P составили 0,062 мг/мл, для *Bacillus cereus* 8035 – 0,12 мг/мл. При данных концентрациях наблюдается бактерицидное действие повидон-йода.

3. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) йодиола при содержании йода от 25 до 0,1 мг/мл для *Escherichia coli* 113-13 составили 6,25 мг/мл, для *Staphylococcus aureus* 209 P это 25 мг/мл, а для *Bacillus cereus* 8035 – 12,5 мг/мл. При содержании йода от 250 до 0,04 мкг/мл установлено, что йодиол не проявляет антибактериальной активности по отношению к стандартным тест-культурам бактерий.

4. Сравнительный анализ антимикробной активности полиазолидинаммония (препарат «Константа» медицинская версия) показал, что данный полимер обладает более эффективным антибактериальным действием при очень низких концентрациях йода (0,00075 мкг/мл) по сравнению с йодиолом и повидон-йодом.

Список использованных источников

1. Бриан, Л. Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам / Л. Е. Бриан, Москва, 1984. 253 с.
2. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для мед.вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. СПб.: СпецЛит, 2000. 591 с.
3. Маянский, А. Н. Патогенетическая микробиология: руководство / А. Н. Маянский. Н. Новгород: Издательство Нижегородской государственной медицинской академии, 2006. 520 с.
4. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам
5. Марычев, С. Н. Полимеры в медицине / С. Н. Марычев, Б. А. Калинин. Владимир: ВлГУ, 2001. 68 с.
6. Дьякова, М. Г. Химическая модификация полимеров 4-винилбензилхлорида и антимикробные свойства образующихся гидроксилсодержащих полимеров / М. Г. Дьякова[и др.] // Вестник МИТХТ. 2012. Т. 7, № 2. С. 66-70.
7. Воробьева, В. М. Методологические основы разработки лекарственных препаратов на основе полимеров / В. М. Воробьева, В. Ф. Турецкова / Фундаментальные исследования. 2004. № 2. С. 45–46.