

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 НЕКОТОРЫХ НОВЫХ
ВАРИАНТОВ ПОЛИАЗОЛИДИНАММОНИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса 422 группы

Направления 06.03.01 Биология

биологического факультета

Фатеевой Екатерины Юрьевны

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. Проблема возникновения и распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов в настоящее время приобретает глобальный характер [1, 2, 3]. Широкое применение антисептиков и дезинфектантов в лечебных и ветеринарных учреждениях, профильных лабораториях биотехнологических и пищевых производств, а также в повседневной жизни граждан обеспечивает выраженное селективное действие на популяции микроорганизмов и способствует отбору резистентных штаммов.

Одной из перспективных групп препаратов, характеризующихся антимикробной активностью, являются полимерные соединения. Их использование позволяет повысить локальную концентрацию и устойчивость действующего вещества к ферментам микроорганизмов, а также снизить токсичность и увеличить длительность действия.

В настоящее время создаются экспериментальные препараты, представляющие собой модифицированные полимерные соединения – аналоги современных антибиотиков, что позволяет преодолеть возникшую к ним устойчивость микроорганизмов [4, 5]. В связи с этим особое внимание проявляется в отношении новых биосовместимых полимерных соединений, или биополимеров, и их модификаций, значение которых в химии живого очень большое и разнообразное.

Поэтому, поиск веществ с антибактериальной активностью среди новых модифицированных биополимерных соединений и изучение их антимикробного действия на различные микроорганизмы является актуальной задачей, определившей необходимость проведения настоящего исследования и позволившей сформулировать его цель и задачи.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы явилось изучение антимикробной активности некоторых новых концентрированных образцов нового полимерного соединения полиазолидинаммония (ПААК) и его модификаций с гидрат-ионами йода на стандартные штаммы бактерий.

Для достижения поставленной цели были определены и решены следующие задачи:

1. Изучить антимикробную активность исходных концентрированных образцов полиазолидинаммония (ПААК) на модели стандартных тест-штаммов микроорганизмов.

2. Определить антибактериальную активность концентратов полимера, модифицированных гидрат-ионами йода (ПААК-М), в отношении стандартных штаммов.

3. Провести сравнительную оценку антимикробного действия концентрированных исходных и модифицированных вариантов полиазолидинаммония на тест-культуры.

Материалы и методы. Работа выполнена на базе кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

В работе в качестве экспериментальных моделей по изучению антимикробной активности новых образцов полимерного соединения были использованы стандартные тест-штаммы грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также микроскопических грибов рода *Candida*.

Объектом исследования явились варианты исходного концентрированного биосовместимого полимера полиазолидинаммония (ПААК) и его модификации с гидрат-ионами йода (ПААК-М), синтезированные сотрудниками кафедры информационной безопасности автоматизированных систем Саратовского государственного технического университета имени Ю. А. Гагарина.

В работе были использованы концентрированные варианты базового полимерного соединения с различным количеством активного вещества (35%, 20%, 10%, 1%) и их модификации с разным содержанием гидрат-ионов йода (100, 50, 25, 10 мкг/мл).

В работе применялся метод двукратных серийных разведений, рабочие концентрации изучаемых образцов полимеров находились в диапазоне от 10000 до 200 мкг/мл.

Определение чувствительности тест-штаммов ко всем исследуемым соединениям проводилось методом двукратных серийных разведений. Определяли минимальную подавляющую концентрацию всех исследуемых соединений. Определение бактерицидного или бактериостатического действия соединений проводили высевам из всех опытных пробирок в чашки Петри на поверхность плотной питательной среды агар Мюллера-Хинтона.

Структура и объем работы. Диплом изложен на 50 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников, включает 5 таблиц и 1 рисунок. Список использованных источников включает в себя 65 наименований.

Основное содержание работы

На первом этапе работы нами была изучена антимикробная активность четырех исходных концентрированных вариантов полиазолидинаммония (ПААК) на модели стандартных тест-штаммов бактерий.

В ходе проведенных исследований было установлено, что из четырех изучаемых образцов три варианта исходных концентратов полимерного соединения ПААК₃₅, ПААК₂₀, ПААК₁₀, имеющие высокие показатели содержания активного соединения, не проявили антибактериальную активность по отношению ко всем семи изучаемым стандартным тест-штаммам микроорганизмов. Только один образец концентрата полимера ПААК₁ с минимальным содержанием активного вещества 1% показал антимикробное действие при высоких значениях МПК в интервале от 10000 до 1250 мкг/мл на 6 тестовых культур грамположительных и грамотрицательных бактерий, но не проявил антимикробную активность на тест-штамм микроскопических грибов.

Образец полимера ПААК₁ характеризовался самым эффективным антибактериальным действием в отношении тест-штаммов грамположительных бактерий стафилококков и бацилл. Показатели МПК для каждого из этих

микроорганизмов определяли в интервале от 1250 мкг/мл и 2500 мкг/мл соответственно, причем при данных концентрациях было установлено бактерицидное действие образца.

В отношении *E. coli* 113-13 ПААК₁ обладал бактерицидным действием в концентрации 5000 мкг/мл.

Концентрация ПААК₁ 10000 мкг/мл для *P. aeruginosa* ATCC 9027 оказывала бактериостатическое действие, при этом синегнойная палочка утрачивала способность к образованию специфического пигмента.

Таким образом, на первом этапе работы была установлена антимикробная активность концентрата базового варианта полимера ПААК₁ с минимальным содержанием активного вещества (1%), только по отношению к стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий. Образцы концентратов полиазолидинаммония с высокими значениями активного соединения (35%, 20%, 10%) не проявляли антимикробное действие на все стандартные тест-штаммы микроорганизмов различных морфологических групп.

На втором этапе работы для повышения эффективности действия концентратов полиазолидинаммония было проведено насыщение четырех исследуемых базовых образцов полимерного соединения гидрат-ионами йода и определена их антимикробная активность в отношении стандартных тест-штаммов микроорганизмов.

В ходе работы было установлено, что из четырех модификаций концентратов полимеров, антимикробную активность проявили только два образца полиазолидинаммония: ПААК₁₀-М₂₅ и ПААК₁-М₁₀.

Наибольшей антимикробной активностью обладал образец полимера ПААК₁-М₁₀, с минимальной концентрацией активного вещества (1%) и содержанием гидрат-ионов йода в концентрации 1 мкг/мл в составе молекулы по сравнению с другими образцами. Показатель МПК данного варианта для *E. coli* 113-13 составил 2500 мкг/мл, значение МПК 5000 мкг/мл данного варианта полимера для *P. aeruginosa* ATCC 9027 оказалось губительным.

При концентрации 1250 мкг/мл образец ПААК₁-М₁₀ проявлял бактерицидное действие по отношению к тест-штаммам грамположительных споровых палочек – *B. cereus* 8035 и *B. subtilis* ATCC 6633.

Наиболее эффективное бактерицидное действие образец ПААК₁-М₁₀ проявил на стандартные тест-штаммы грамположительных кокков *S. aureus* 209Р и *S. epidermidis* ATCC 14990 при концентрации 625 мкг/мл.

Также впервые было выявлено фунгицидное действие данного варианта модифицированного полимера ПААК₁-М₁₀ на стандартный тест-штамм представителя микроскопических грибов *C. albicans* 13101 при концентрации 10000 мкг/мл.

Вариант полимера ПААК₁₀-М₂₅ (10%, содержание гидрат-ионов йода 25 мкг/мл) проявлял антимикробную активность при высоких значениях МПК только в отношении тест-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий, и не обладал фунгицидным действием на тест-культуру *C. albicans* 13101 при всех рабочих концентрациях исследуемого образца. При всех показателях МПК наблюдалось бактерицидное действие данного образца полимера.

Значения МПК варианта полимера ПААК₁₀-М₂₅ для стандартных тест-штаммов грамположительных палочек *P. aeruginosa* ATCC 9027 *E. coli* 113-13 были максимальными и составляли 10000 мкг/мл и 5000 мкг/мл соответственно.

В отношении стандартных тест-штаммов грамположительных палочек *B. cereus* 8035 и *B. subtilis* ATCC 6633 полимер ПААК₁₀-М₂₅ обладал антимикробным действием при концентрации 2500 мкг/мл.

Рабочая концентрация ПААК₁₀-М₂₅ 1250 мкг/мл оказывала губительное действие на тестовые культуры грамположительных кокков *S. aureus* 209Р и *S. epidermidis* ATCC 14990, причем при данной концентрации наблюдалось бактерицидное действие данного образца.

Таким образом, на втором этапе работы была установлена антимикробная активность двух вариантов полиазолидинаммония, модифицированных гидрат-

ионами йода: ПААК₁-М₁₀ и ПААК₁₀-М₂₅ по отношению к стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микроскопических грибов рода *Candida*.

На заключительном этапе работы проводили сравнительную оценку антибактериальной активности всех концентрированных образцов исходных вариантов полиазолидинаммония, отличающихся содержанием активного вещества (ПААК₃₅, ПААК₂₀, ПААК₁₀, ПААК₁) и количеством гидрат-ионов йода (ПААК₃₅-М₁₀₀, ПААК₂₀-М₅₀, ПААК₁₀-М₂₅, ПААК₁-М₁₀).

Результаты проведенных исследований показали, что среди четырех исходных вариантов концентратов полиазолидинаммония антибактериальную активность проявлял только один образец полимера ПААК₁ в отношении стандартных тест-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий, но не в отношении микроскопических грибов. Данный вариант имеет минимальное значение содержания активного вещества 1% по сравнению с другими образцами. Три образца полимера с высокими показателями активного вещества (35%, 20%, 10%) не обладали антимикробным действием на все стандартные тест-штаммы микроорганизмов.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что имеется прямая зависимость антибактериального действия разных образцов, от концентрации активного вещества в составе полимера. Установлено, что при низких значениях концентрации активного соединения в образце (1%) проявляется антибактериальная активность полимера в отношении стандартных тест-культур. Показатели МПК данного полимерного образца находились в интервале от 10000 до 2500 мкг/мл для разных стандартных тест-штаммов бактерий.

Данное явление можно объяснить специфическим строением молекулы полиазолидинаммония. При низких концентрациях активного составляющего молекула полимера имеет разветвленную линейную структуру, и в таком состоянии наблюдается ее лучшее взаимодействие с поверхностью клеток грамположительных бактерий. При высоких показателях активного вещества

молекула полимера имеет глобулярную строение и неэффективно взаимодействует с поверхностью микробных клеток.

Так же стало известно, что наличие в составе молекулы гидрат-ионов йода усиливает антимикробное действие исследуемых образцов концентратов полимера.

Из четырех модификаций концентратов полимера два изученных образца проявили различную антибактериальную активность в отношении всех тестовых культур. Значения МПК также были достаточно высокими в интервале от 10000 до 625 мкг/мл.

Присутствие в составе молекулы образца полимера ПААК₁ гидрат-ионов йода в концентрации 10 мкг/мл усилило его антимикробное действие по отношению ко всем стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также проявлялось фунгицидное действие данного варианта на тест-штамм микроскопических грибов *C. albicans* 13101. Показатели МПК данного модифицированного варианта снизились в два раза по сравнению с МПК исходного образца.

Но, следует отметить, что эффективность антимикробного действия всех модифицированных вариантов полимера на тест-культуры уменьшалась с увеличением содержания гидрат-ионов йода. Такое явление можно объяснить тем, что гидрат-ионы йода экранируются в составе молекул полимера с глобулярной структурой, и не наблюдается эффективное взаимодействие с поверхностью клетки. Наличие гидрат-ионов йода в составе разветвленной линейной молекулы полимера способствует повышению антимикробного воздействия на клетки микроорганизмов. Полученные результаты имеют большой интерес, и, безусловно, требуют дальнейшего изучения.

Наибольшая антибактериальная эффективность была выявлена у образца концентрата ПААК₁-М₁₀, который имел низкий показатель содержания активного вещества (1%) и минимальное количество гидрат-ионов йода (10 мкг/мл).

Полученные результаты в дальнейшем можно использовать для скрининга наиболее эффективных полимерных соединений с высокой антимикробной активностью, которые имеют определенные качественные и количественные молекулярные характеристики, что обеспечит их лучшее избирательное антимикробное воздействие на разнообразные группы микроорганизмов.

Заключение

Проблема возникновения и распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов в настоящее время приобретает глобальный характер. Широкое применение антисептиков и дезинфектантов в лечебных и ветеринарных учреждениях, профильных лабораториях биотехнологических и пищевых производств, а также в повседневной жизни граждан обеспечивает выраженное селективное действие на популяции микроорганизмов и способствует отбору резистентных штаммов.

Одной из перспективных групп препаратов, характеризующихся антимикробной активностью, являются полимерные соединения. Их использование позволяет повысить локальную концентрацию и устойчивость действующего вещества к ферментам микроорганизмов, а также снизить токсичность и увеличить длительность действия.

Полиазолидинамоний является одним из таких перспективных соединений. Поэтому целью данной работы явилось изучение антимикробной активности некоторых новых концентрированных образцов нового полимерного соединения полиазолидинаммония (ПААК) и его модификаций с гидрат-ионами йода на стандартные штаммы бактерий.

На первом этапе работы нами была изучена антимикробная активность четырех исходных концентрированных вариантов полиазолидинаммония (ПААК) на модели стандартных тест-штаммов бактерий. Была установлена антимикробная активность концентрата базового варианта полимера ПААК₁ с минимальным содержанием активного вещества (1%), только по отношению к стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных

бактерий. Образцы концентратов полиазолидинаммония с высокими значениями активного соединения (35%, 20%, 10%) не проявляли антимикробное действие на все стандартные тест-штаммы микроорганизмов различных морфологических групп.

На втором этапе работы для повышения эффективности действия концентратов полиазолидинаммония было проведено насыщение четырех исследуемых базовых образцов полимерного соединения гидрат-ионами йода и определена их антимикробная активность в отношении стандартных тест-штаммов микроорганизмов.

В результате проведенной работы была установлена антимикробная активность двух вариантов полиазолидинаммония, модифицированных гидрат-ионами йода: ПААК₁-М₁₀ и ПААК₁₀-М₂₅ по отношению к стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микроскопических грибов рода *Candida*.

Наиболее эффективное бактерицидное действие образец ПААК₁-М₁₀ проявил на стандартные тест-штаммы грамположительных кокков *S. aureus* 209Р и *S. epidermidis* ATCC 14990 при концентрации 625 мкг/мл.

Также впервые было выявлено фунгицидное действие данного варианта модифицированного полимера ПААК₁-М₁₀ на стандартный тест-штамм представителя микроскопических грибов *C. albicans* 13101 при концентрации 10000 мкг/мл.

На заключительном этапе работы проводили сравнительную оценку антибактериальной активности всех концентрированных образцов исходных вариантов полиазолидинаммония, отличающихся содержанием активного вещества (ПААК₃₅, ПААК₂₀, ПААК₁₀, ПААК₁) и количеством гидрат-ионов йода (ПААК₃₅-М₁₀₀, ПААК₂₀-М₅₀, ПААК₁₀-М₂₅, ПААК₁-М₁₀).

Наибольшая антибактериальная эффективность была выявлена у образца концентрата ПААК₁-М₁₀, который имел низкий показатель содержания активного вещества (1%) и минимальное количество гидрат-ионов йода (10 мкг/мл).

Присутствие в составе молекулы образца полимера ПААК₁ гидрат-ионов йода в концентрации 10 мкг/мл усилило его антимикробное действие по отношению ко всем стандартным тест-штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также проявлялось фунгицидное действие данного варианта на тест-штамм микроскопических грибов *C. albicans* 13101. Показатели МПК данного модифицированного варианта снизились в два раза по сравнению с МПК исходного образца.

Но, следует отметить, что эффективность антимикробного действия всех модифицированных вариантов полимера на тест-культуры уменьшалась с увеличением содержания гидрат-ионов йода. Такое явление можно объяснить тем, что гидрат-ионы йода экранируются в составе молекул полимера с глобулярной структурой, и не наблюдается эффективное взаимодействие с поверхностью клетки. Наличие гидрат-ионов йода в составе разветвленной линейной молекулы полимера способствует повышению антимикробного воздействия на клетки микроорганизмов.

Полученные результаты в дальнейшем можно использовать для скрининга наиболее эффективных полимерных соединений с высокой антимикробной активностью, которые имеют определенные качественные и количественные молекулярные характеристики, что обеспечит их лучшее избирательное антимикробное воздействие на разнообразные группы микроорганизмов.

Выводы

1. Установлена антибактериальная активность концентрата базового образца полиазолидинаммония (ПААК) с минимальным количеством активного вещества (1%): показатели МПК для тест-штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий определялись в интервале от 10000 до 1250 мкг/мл.
2. Варианты концентратов полиазолидинаммония ПААК₁-М₁₀ и ПААК₁₀-М₂₅, модифицированные гидрат-ионами йода, оказывали выраженное

антимикробное действие на все тест-штаммы микроорганизмов при значениях МПК в диапазоне от 10000 до 625 мкг/мл.

3. Выявлено усиление антимикробной активности двух образцов полимера ПААК₁-М₁₀ и ПААК₁₀-М₂₅ при их насыщении гидрат-ионами йода в количестве 10 и 25 мкг/мл соответственно.

4. Наиболее эффективная антимикробная активность в отношении всех тест-штаммов микроорганизмов установлена у образца модифицированного концентрата полиазолидинаммония ПААК₁-М₁₀ с минимальным количеством активного вещества 1% и низким содержанием гидрат-ионов йода 10 мкг/мл.

Список использованных источников:

1. Сидоренко, С. В. Исследования распространения антибиотикорезистентности: практическое значение для медицины / С. В. Сидоренко // Инфекции и антимикробная терапия. 2002. Т. 4, № 2. С. 38-41.

2. Соловьева, О. В. Рациональные подходы к антибиотикотерапии у животных при хирургических вмешательствах / О. В. Соловьева // Российский ветеринарный журнал. 2006. № 1. С. 35-40.

3. Забровская, А. В. Устойчивость к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и из продуктов в Ленинградской области / А. В. Забровская [и др.] // Международный вестник ветеринарии. № 3. 2011. С. 15-18.

4. Менча, М. Н. Влияние дезинфектантов на формирование и удаление биопленок обрастания поверхностей оборудования систем питьевого водоснабжения / М. Н. Менча // Вестник Полоцкого гос. ун-та. Прикл. науки: Пром-сть. Стр-во. 2006. № 9. С. 162-168.

5. Шорникова, Е. А. Оценка санитарно-микробиологического состояния водотоков бассейна широтного отрезка Средней Оби / Е. А. Шорникова, А. В. Куяров // Проблемы региональной экологии. 2007. № 4. С. 95-99.