

УДК 577.15.013

## ВЛИЯНИЕ ИОНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *S. albus* И *E. coli* К ПЕНИЦИЛЛИНУ

Э. Р. Сафарова, С. С. Бакшеева, В. А. Бурлаков, В. В. Егоров

(Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина)

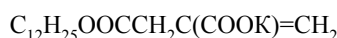
**Исследовано влияние катионного и анионного ПАВ, а также их смесей с антибиотиком – 6-аминопенициллановой кислотой на рост клеток *S. albus* и *E. coli*. Найдено торможение роста клеток *S. albus* в мицеллярных растворах ПАВ, более значительное при добавлении антибиотика, который сам по себе не влияет на культуру. В случае *E. coli* торможение роста наблюдается только в системе катионный ПАВ – антибиотик. Обнаруженные эффекты связаны с иммобилизацией антибиотика в мицеллах ПАВ, в результате чего облегчается его транспорт через клеточные мембраны и затрудняется инактивация пенициллиназой бактерий.**

В последние годы в ветеринарии и медицине вообще все более актуальной становится проблема преодоления резистентности живых организмов, в том числе микроорганизмов, к антибиотикам. Например, такой доступный и относительно дешевый препарат, как пенициллин, без дополнительной модификации сегодня малоэффективен в отношении многих возбудителей заболеваний. Известны способы химической модификации антибиотиков, однако этот процесс достаточно сложен и в ряде случаев может привести к снижению активности препарата. Одним из простых и эффективных способов является физическая модификация антибиотиков, например посредством иммобилизации в мицеллах органических поверхностно-активных веществ (ПАВ). Такие вещества сами могут проявлять бактериостатическое и бактерицидное действие [3].

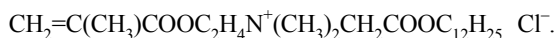
Цель настоящей работы – изучение влияния ионогенных ПАВ на чувствительность к пенициллину культур *S. albus* и *E. coli*, устойчивых к данному антибиотику, так как они продуцируют особый фермент – пенициллиназу [2].

В работе использовали пенициллин в виде 6-аминопенициллановой кислоты (6-АМПК), которую получали из ее натриевой соли осаждением соляной кислотой в водном растворе с последующим отделением и высушиванием. На основе полученного препарата готовили растворы (10, 20 и 30 мол.%).

В работе применяли суточные бульонные культуры *S. albus* (штамм Эксудат 2) и *E. coli* (штамм К-99), анионоактивное поверхностно-активное вещество (АПАВ) – калиевую соль додецилового полуэфира итаконовой кислоты



и катионное поверхностно-активное вещество (КПАВ) – хлорид N,N-диметил,N-метакрилоилэтил,додецилацетиламмония



Концентрации растворов ПАВ выбирали в диапазоне критических концентраций мицеллообразования ( $KKM_{АПАВ} = 6 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $KKM_{КПАВ} = 1,8 \cdot 10^{-3}$  моль/л).

Методика эксперимента следующая. Суточную бульонную культуру бактерий высевали на МПА и подтитровывали исследуемый препарат. После суточной инкубации в термостате при 37° измеряли зону задержки роста (ЗЗР) в миллиметрах.

В преварительных опытах было подтверждено, что исследуемые культуры бактерий резистентны к 6-АМПК. Установлено, что КПАВ и АПАВ не влияют на *E. coli*, но тормозят рост *S. albus* (табл. 1).

В табл. 2 представлены данные изучения роста бактерий в присутствии смесей ПАВ с 6-АМПК. Видно, что в случае АПАВ максимальный эффект наблюдается в области концентраций указанного соединения выше ККМ при использовании 20 мол. % раствора 6-АМПК. Поскольку ниже указанной концентрации ПАВ зона задержки роста практически отсутствует, можно полагать, что эффективным является антибиотик, включенный в мицеллы ПАВ, причем именно в таких количествах, которые могут солюбилизоваться мицеллами.

Восстановление чувствительности устойчивых штам-

Таблица 1

Влияние ПАВ на рост культуры *S. albus*

ПАВ	Концентрация ПАВ · 10 <sup>5</sup> , моль/л	ЗЗР, мм
АПАВ	6	–
	60	1–2
	100	1–2
КПАВ	100	4–5
	180	6–7
	1500	10

Таблица 2

## Влияние системы ПАВ – 6-АМПК на рост бактерий

Культура	Концентрация ПАВ · 10 <sup>3</sup> , моль/л	Концентрация 6-АМПК, мол%	ЗЗР, мм
<i>S. albus</i>	1 (АПАВ)	10	8
		20	13
		30	7
	1 (КПАВ)	10	–
		20	2–3
		30	5
	15 (КПАВ)	10	4
		20	13
		30	10
<i>E. coli</i>	1 (КПАВ)	10	2–3
		20	–
		30	4–5
	1,8 (КПАВ)	10	2–3
		20	–
		30	–
	1 (КПАВ)	10	5–6
		20	7
		30	7–8

мов стафилококка к пенициллину в присутствии анионоактивного ПАВ наблюдали ранее Елинов и Строев [2]. Авторы полагали, что такой эффект является результатом ингибирующего действия АПАВ на пенициллиназу вследствие образования комплекса фермент-ПАВ. Нами была показана способность АПАВ как активировать, так и ингибировать ферменты в результате адсорбции на белковой глобуле, в частности в районе ее активного центра, причем последний эффект проявляется в диапазоне низких концентраций АПАВ, ниже ККМ. В этой связи обнаруженный эффект торможения роста бактерий выше ККМ может быть в первую очередь результатом включе-

ния 6-АМПК в мицеллы ПАВ с последующим эффективным транспортом через мембрану минуя пенициллиназу, поскольку ПАВ являются мембранотропными соединениями.

Как показано в табл. 2, система КПАВ – 6-АМПК оказывает заметное влияние на рост *S. albus*. Как и в предыдущем случае максимальный эффект проявляется в области концентраций ПАВ выше ККМ при концентрации антибиотика 20 мол. %, т.е. и в этом случае наиболее активным является 6-АМПК, включенный в мицеллы ПАВ. При этом следует отметить, что относительный эффект увеличение зоны задержки роста при введении 6-АМПК в раствор ПАВ более выражен в случае анионоактивного соединения. Этот результат согласуется с данными Афиногенова и Панарина [1], которые отмечали, что более слабый ингибирующий эффект антибиотика в смеси с КПАВ связан с незначительным изменением конформации пенициллиназы в результате адсорбции на ее глобуле указанных соединений.

В работе не обнаружено влияние системы АПАВ – 6-АМПК на *E. coli*, однако выявлено заметное ингибирование ее роста системой КПАВ – 6-АМПК выше ККМ<sub>ПАВ</sub> при концентрации антибиотика 20–30 мол. % (табл. 2). Этот результат можно объяснить тем, что в грамотрицательных бактериях достаточно плотно упакованные молекулы пенициллиназы находятся в периплазматическом пространстве цитоплазматической мембраны. Известно, что анионоактивные ПАВ избирательно распределяются во внешнем монослое мембраны, а катионоактивные – во внутреннем цитоплазматическом монослое, что и определяет, по-видимому, способность их мицелл более эффективно доставлять антибиотик внутрь клетки минуя фермент.

Таким образом, в работе показано, что физическая модификация антибиотиков посредством их иммобилизации в мицеллах ионогенных ПАВ может быть эффективным способом преодоления резистентности микроорганизмов, например к пенициллину.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. //Антимикробные полимеры. С.-Пб., 1993.
2. Елинов Н.П. //Химическая микробиология. М., 1989.
3. Сафарова Э.Р. //Вопросы физико-химической биологии в ветеринарии. Сб. науч. трудов МГАВМиБ им. К.И.Скрябина. М., 1997. С. 54.

Поступила в редакцию 20.01.2000