

ДЕЙСТВИЕ СОПОЛИМЕРА ДИАЛИЛДИМЕТИЛАММОНИЙХЛОРИДА С ДИАЛИЛГУАНИДИНАЦЕТАТОМ НА КЛЕТочную СТЕНКУ СТРЕПТОКОККА*

Через 8-16 часов после начала контакта с испытуемым сополимером стрептококки теряли способность к росту на питательных средах, обусловленную нарушением целостности клеточной стенки.

Ключевые слова: стрептококк, организм, биоцидные, препараты, бактериальная клетка, сополимер.

Вызываемые стрептококками патологические состояния можно отнести к так называемым факторным инфекциям, для которых характерно длительное пребывание возбудителя как в организме, так и в популяции хозяев. Длительное пребывание возбудителя в популяции обуславливает отбор антибиотикоустойчивых рас микроорганизмов, формирующийся на протяжении жизни многих поколений хозяев. С другой стороны, длительный контакт с иммунной системой одного и того же вида приводит к формированию у этих микроорганизмов различных факторов, позволяющих им «ускользнуть» от ее механизмов и факторов. Таким образом, проблема терапии факторных инфекций, обусловленных стрептококками, весьма актуальна и требует изыскания новых подходов в разработке средств и методов ее проведения.

Для решения этих задач перспективным представляется использование полимеров, которые в силу своей химической природы открывают перспективу создания биоцидных препаратов, оказывающих комбинированное воздействие на бактериальную клетку. Нерастворимость в воде ограничивает возможность использования некоторых веществ в качестве биоцидных средств. При использовании же в качестве носителей водорастворимых полимеров этот недостаток в значительной степени устраняется. При этом утрачивается вредное воздействие на клетки и ткани биоцидного вещества, при полном сохранении его антимикробной активности [3]. Нами было изучено действие сополимера диалилдиметиламмонийхлорида с диалилгуанидинацетатом (70:30) на клеточную стенку стрептококка. Сополимеры добавляли в среду с культурой стрептококка через 8 часов инкубирования при 37°C. Через 16 часов клетки стрептококков отмывали трехкратно стерильным физиологическим раствором методом центрифугирования при 3000 об./мин. Полученные таким образом взвеси микробов фиксировались на подложке из слюды и изучались методом сканирующей зондовой микроскопии. Во втором случае суточные бульонные культуры стрептококков отмывали трехкратно и добавляли полимер. Через 6 часов фиксировали микробы на подложку из слюды и проводили микроскопию. Визуализацию поверхности бактериальных клеток осуществляли в полуконтактном и контактном режимах на атомно-силовом микроскопе Solver Pro - 47 в лаборатории нанозондовых исследований Кабардино-Балкарского государс-

* © Мешев Э.М.

твенного университета. В качестве зонда был использован кантилевер NGS-10 с острием из нитрида кремния, механическая жесткость кантилеверов составляла 0,06 и 0,12 н/м. Величина силы взаимодействия между острием и исследуемой поверхностью составляла 10^{-9} Н.

Результаты исследования. Через 16 часов инкубирования в среде с полимером был проведен пересев стрептококков в стерильный бульон и на МПА с 5% эритроцитов барана для выяснения биоцидности изучаемого полимера. Характерным для наших исследований было отсутствие роста в МПБ и на кровяном агаре в течение 48 часов у культур, подверженных воздействию сополимера диалилдиметиламмонийхлорида с диалилгуанидинацетатом. Визуализация клеточной стенки методом атомно-силовой микроскопии позволила установить дефект в клеточной стенке. Характерным для стрептококков, пребывавших в контакте с полимером, было отсутствие длинных или коротких цепочек. Микробные клетки, как правило, располагались парами или одиночно. Конфигурация кокков была изменена и имела форму овоидов (рис. 1).

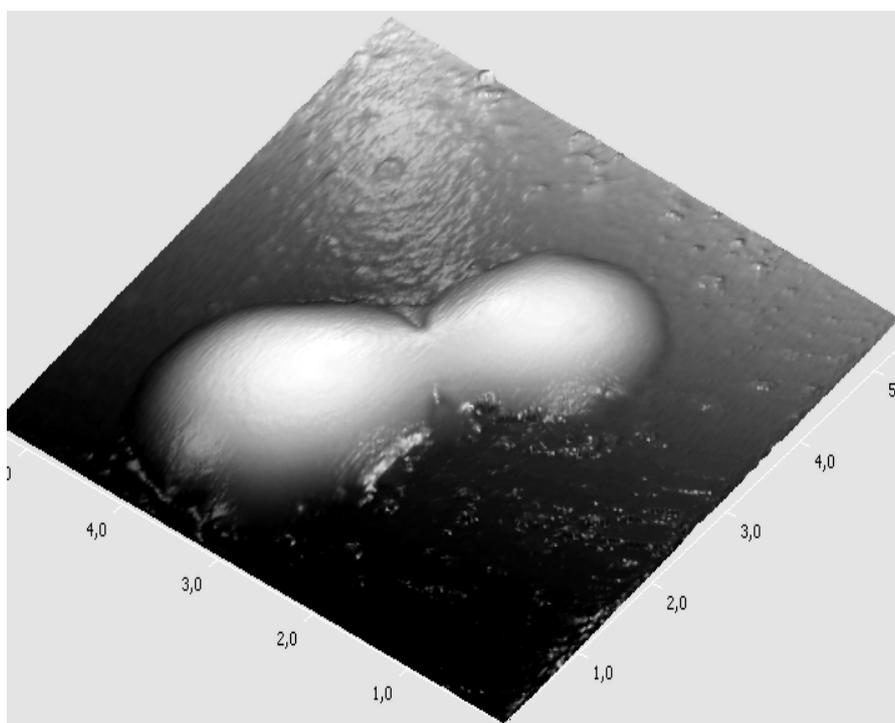


Рис. 1. Изменение формы и целостности микробных клеток под воздействием полимера (сканирующая зондовая микроскопия).

Кокки были несколько увеличены в сравнении с исходными культурами. Такие же результаты были получены в опытах с отмытыми культурами стрептококков, где контакт полимера с бактериальной клеткой осуществлялся в стерильном растворе дистиллированной воды. Через 6 часов после начала контакта при комнатной температуре и трехкратной отмывке стерильным физиологическим раствором, стрептококки теряли способность к росту на МПБ и МПА с 5% эритроцитов барана. Изменения конфигурации кокков при этом были менее выражены или не выражены вообще. Однако также отмечались нарушения целостности клеточных

стенок и небольшое увеличение их объема. Мы предполагаем, что изменения формы клеток больше выражены у растущих культур в условиях питательных сред. Характерно, что после контакта с сополимером диалилдиметиламмонийхлорида с диалилгуанидинацетатом клетки стрептококков практически не окрашивались по Грамму.

Полученные нами данные позволяют считать, что сополимер диалилдиметиламмонийхлорида с диалилгуанидинацетатом обладает биоцидностью для клеток стрептококков. Одним из моментов такого влияния является нарушение целостности клеточной стенки, обусловленное химическим взаимодействием с составными элементами клеточной стенки, приводящее к увеличению порозности мембран и их разрыву. Проведенные ранее [4] исследования взаимодействия полимеров с эритроцитами и бактериальными клетками показали, что некоторые полимеры быстро связываются с клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной, а затем уже проникают в цитоплазму и ядерное вещество клетки. При этом увеличивается проницаемость клеточной мембраны как для низкомолекулярных, так и высокомолекулярных веществ [5]. Повышение концентрации полиэлектролитов до 50-100 мкг/мл и более приводит к интенсивному повреждению клеточной мембраны [1, 2, 5].

Проведенные нами исследования позволяют сделать следующие выводы:

1) сополимер диалилдиметиламмонийхлорида с диалилгуанидинацетатом обладают бактерицидным действием для стрептококков, изолированных из зева человека;

2) бактерицидное действие полимера связано с нарушением целостности клеточной стенки, приводящее к изменению ее формы, а также нарушению проницаемости и разрыву.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афиногенов Г.Е., Панарин Е. Антимикробные полимеры. – СПб.: Гиппократ, 1993.
2. Платэ Н.А., Васильев А.Е. // Высокомолекулярные соединения. – 1982. – Т. 24. – № 4. – С. 675.
3. Хаширова С.Ю. Новые биоцидные гуанидинсодержащие полимеры: Дисс. ... канд. хим. наук. – М, 2002.
4. Panarin E.F. // 26 Microsymposium on Macromolecules Polymers in medicine and Biology. – Prague, 1984. – P. 87.
5. Ryser H.J. // Science. – 1965. – V. 150. – P. 501.

EFFECT OF COPOLYMER DIMHETYLDIALILAMMONIUMCHLORIDE WITH DIALILGUANINACETATE ON STREPTOCOCCAL CELLULAR WALL

E. Meshev

Abstract. In 8-16 hours after beginning of contact to testing copolymer streptococci lost ability to growth on the nutrient mediums, caused by infringement of a cellular wall.

Key words: streptococcus, an organism, biocide, preparations, bacterial cage, copolymer.