

УДК 615.015.2:[613.33+615.28]:57.083.1

**СТУПІНЬ ВПЛИВУ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ
ПОХІДНИХ АМІНОЦУКРОХІНОЛІНІЮ НА
ЕЛІМІНАЦІЮ ПЛАЗМІД
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ
МІКРООРГАНІЗМІВ**

Руденко С.С.

**ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І.
Мечникова АМНУ»**

В свій час поява сульфаніламідів, пеніциліну, стрептоміцину та тетрациклінів призвела до суттєвого зниження смертності від захворювань дихальної системи, туберкульозу та гострих пневмоній насамперед. Та поступово, а іноді і в короткий термін, по мірі розширення застосування антибіотиків та сульфамідних препаратів ефективність їх знижувалась, а хвороби мікробного генезу і на сьогодні є вельми актуальною проблемою гуманної і ветеринарної медицини [1].

Антибіотики здійснили революцію в лікувальній практиці, від 35 до 65%, за свідченням різних авторів [2-4], госпіталізованих хворих отримують їх. Та навіть не дивлячись на появу все нових і нових поколінь антибіотиків –

β-лактамів, глікопептидів, фосфоміцинів, хінолонів і амікоглікозидів, MLSK (макролідів, лінкозамідів, стрептограміну, кетолідів) тощо – все частіше клініцисти висловлюють думку щодо необхідності повернення до давно апробованих і раніше широко використовуваних протимікробних засобів рослинного походження, хімічного синтезу, а також фізичних методів профілактики та лікування. Особлива увага в останні десятиріччя прикута до четвертинних похідних амонію та хінолінію, на основі яких розроблено вже цілий арсенал антисептиків, дезінфектантів і стериліантів. Вельми активно в цьому напрямку проводять дослідження науковці вже давно сформованих мікробіологічних шкіл Г.К. Палія, А.Я. Циганенка, І.Л. Дикого, І.Й. Сидорчука, В.П. Широбокова, М.Г. Проданчука, Ю.Л. Волянського, Ю.С. Кривошеїна [5]. Школи В.В. Смірнова, Г.М. Кременчуцького, С.І. Климнюка, Д.С. Янковського, А.П. Левицького розробили і впровадили в клінічну практику цілий ряд пробіотиків та пребіотиків. По цьому подальше вивчення нових синтетичних хімічних сполук вельми актуальне і своєчасне.

Наукова література буває даними щодо темпів розвитку і механізмів антибіотикорезистентності клінічно значущих патогенів [6-8], та слід вказати, що нерідким явищем є поява стійких штамів мікробів і до антисептиків, в тому числі і до четвертинних амонієвих сполук [9]. Важливим і до кінця ще не розпізнаним фактом є те, що деякі патогени, псевдомонади, протейі, ешеріхії та неспорові анаероби насамперед, в досліді *in vitro* проявляють досить високу чутливість до протимікробних засобів, але при клінічному їх використанні виявляються малоефективними.

Відомо, що виникнення резистентності до лікарських препаратів є природною біологічною

відповіддю на використання антимікробних препаратів, які створюють селективний тиск, сприяють відбору, виживанню та розмноженню резистентних штамів мікроорганізмів [10]. Важкості перебігу хвороби сприяють такі біологічні властивості, як продукція цитотоксинів, ендотоксинів, гемолізинів та протеаз. Перелічені вище фактори патогенності можуть мати як хромосомну, так і плазмідну локалізацію. Останнім часом велика увага приділяється ролі вірулентних та помірних фагів як факторів горизонтального переносу генів та утворенню патогенних варіантів сапрофітних мікроорганізмів [11].

Загальновідомо, що плазмідні безпосередньо в змозі детермінувати (Hly, Ent) та опосередковано контролювати (R, Col, F) деякі властивості патогену, забезпечуючи йому при цьому селективні переваги в мікробній популяції відповідної екологічної ніші. Відомо також, що цілий ряд біологічно активних речовин суттєво впливають на процес міжмікробної кон'югації, значно знижуючи передачу і поширення плазмід антибіотикорезистентності в межах екологічної ніші, клінічно значущих патогенів [10].

Мета роботи: дослідити елімінуючий вплив похідних аміноцукрохінолінію нового синтезу на бактеріальні плазмідні, вивчити ступінь їх дії на трансмісійність плазмід в кон'югації та процес їх передачі від донора до реципієнта.

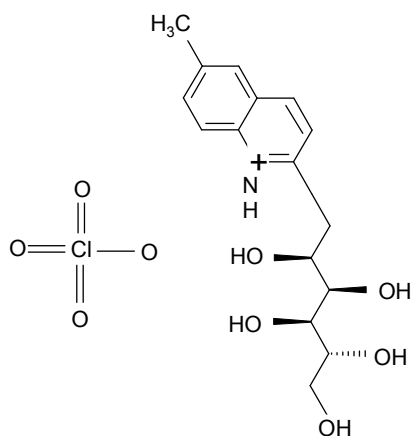
Матеріали та методи

В дослід взято відомі антисептики групи четвертинного амонію – декаметоксин та мірамістин і чотири сполуки (під шифрами 5; 10; 16; 20) – гетероциклічні похідні хінолінію з фрагментами аміноцукрів (рис.1).

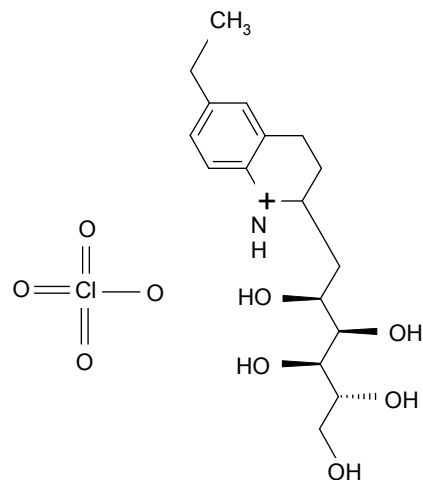
Дослідження елімінуючого впливу антисептиків на К-плазмідні проводили за наступною методикою. Розведену МПБ або бульйоном Хоттінгера добову культуру донора розливали в пробірки. В дослідний ряд пробірок додавали суббактеріостатичну концентрацію антисептику, в контрольній пробірці хімічні речовини не додавали. Досліджувану суміш витримували в термостаті при 37°C на протязі 24 годин, потім проводили висів з пробірок на селективні і звичайні щільні середовища. Після наступної інкубації чашок Петрі в термостаті на протязі 24 годин при 37°C підраховували число колоній. Ступінь елімінації плазмід оцінювали по різниці кількості колоній в дослідних і контрольних чашках.

При вивченні впливу антисептика на трансмісійність плазмід в кон'югації та процес їх передачі від донора до реципієнта використовували суббактеріостатичні дози антисептиків при різних варіантах оброблення хімічними речовинами компонентів, що приймають участь в процесі кон'югації:

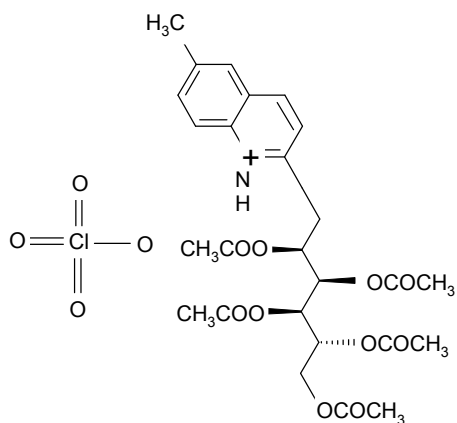
1. Оброблений донор-інтактний реципієнт;
2. Інтактний донор- оброблений реципієнт;
3. Оброблений донор- оброблений реципієнт;
4. Додавання антисептика в кон'югаційну суміш.



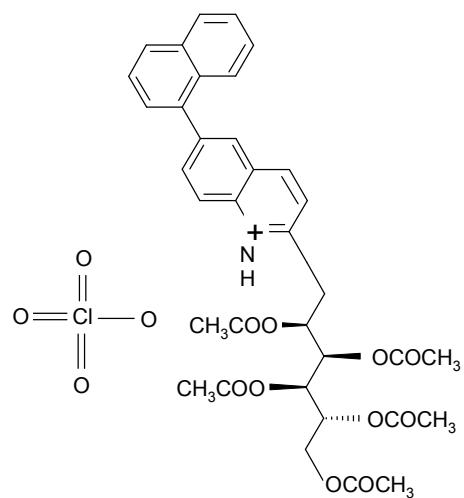
Сполука 5. 6-Methyl-2-(3, 4, 5, 6, 7-pentahydroxyhept-1-enyl)-quinolinium; perchlorate



Сполука 10. 6-Naphthyl-2-(3, 4, 5, 6, 7-pentahydroxyhept-1-enyl)-quinolinium; perchlorate



Сполука 16. 6-Ethyl-2-(3, 4, 5, 6, 7-pentaacetylhept-1-enyl)-quinolinium; perchlorate



Сполука 20. 6-Naphthyl-2-(3, 4, 5, 6, 7-pentaacetylhept-1-enyl)-quinolinium; perchlorate

Рис. 1. Хімічна структура похідних аміноцукрохінолінію

Різниця кількості транскон'югантів на селективному живильному середовищі після обробки похідними аміноцукрохінолінію та кількості транскон'югантів в контролі дозволяла оцінити ступінь впливу антисептика на кон'югаційний процес. Додаткові умови дослідів рахуємо за доцільне подавати в подальшому по мірі використання окремої методики.

Результати та обговорення

Ступінь впливу гетероциклічних похідних хінолінію з фрагментами аміноцукрів на елімінацію Hly-плазмід, детермінуючих продукцію α – гемолізіну у *E.coli*, вивчено з використанням штаму *E.coli* KS 112 Hly (Km). Тест-культура кишкової палички ентеропатогенна, проявляє виражену гемолітичну дію, володіє рекомбінатною плазмідною з включенням Km-транспозоном, що надає їй стійкість до канаміцину. Дані таблиці 1 відображають ступінь впливу вивчаємих антисептиків в різних дозах на процес передачі Hly-плазмід кишкової палички.

Ступінь впливу досліджуваних антисептиків на передавання Hly-плазмиди в процесі кон'югації вивчено в декількох варіантах експерименту: при обробці антисептиком в низьких дозах мікробів-донорів і реципієнтів перед кон'югацією, при обробці антисептиком тільки донора і тільки реципієнта перед кон'югацією і при додаванні протимікробного засобу до кон'югаційної суміші. Щодо параметрів впливу антисептиків на процес передавання плазмід резистентності висновок надавали з врахуванням різниці в кількості рекомбінантів, які проявились на селективному щільному живильному середовищі з додатком канаміцину і в контрольних чашках Петрі (агар без вмісту канаміцину). Результати дослідів ілюструють дані таблиці 2.

Відомо, що Ent-плазмиди обумовлює прояв ентеротоксичності, а при наявності одночасно ще інших факторів адгезії (K-88) забезпечує ентеропатогенні властивості патогенам родини Enterobacteriaceae. Для дослідження елімінуючого ефекту похідних аміноцукрохінолінію щодо Ent-плазмід використано референтний штам *E.coli* rAP 10-2 :: Tng. Ent-плазмиди референтного мікроба мічаєна транспозоном Tng, який несе детермінанти стійкості до левоміцетину (Lm). Референтний штам *E.coli* проявив чутливість до хлорамфеніколу в дозі 62,5 мкг/мл, до антисептиків групи четвертинного амонію - в дозах від 31,2 до 128,0 мкг/мл. В дослід взято антисептики в дозі 10-20 мкг/мл, додавали їх до пробірки з МПБ та 0,1 мл чотирьохгодинної культури тест-мікробу. Після інкубування на протязі двох діб в термостаті при 37°C з розведень до 10^{-8} робили висів на щільні живильні середовища (МПА і МПА+31,2 мкг/мл левоміцетину). Підраховуючи різницю в кількості колоній в досліді і контролі визначали відсоток елімінації Ent-плазмід (табл.3).

Одержані результати дослідів свідчать за те, що в даних умовах експерименту сполуки 16 та 20 не проявляють вираженої елімінуючої активності щодо Ent-плазмід використаного тест-штаму кишкової па-

лички. Сполуки 5 та 10 і декаметоксин з високим ступенем вірогідності елімують Ent-плазмиди кишкової палички. Одержані дані продикували необхідність подальшого вивчення впливу антисептиків на процес передавання Hly-плазмід при кон'югації використаного в попередньому досліді штаму кишкової палички (в якості донора) і *E.coli* C-600 (в якості реципієнта). Після обробки донора і реципієнта антисептиками бактеріальні клітини відмивали центрифугуванням при 2500 обертах на хвилину на протязі 10 хвилин. Для селекції рекомбінантів використовували МПА з додаванням левоміцетину (62,5 мкг/мл) і стрептоміцину (31,2 мкг/мл). Вказане живильне середовище інгібувало ріст і розмноження донора за рахунок дії левоміцетину, реципієнта – за рахунок дії стрептоміцину. Поява колоній на МПА з антибіотиками в різних варіантах дослідів свідчила за ріст і розмноження рекомбінантів кишкової палички (табл.4). Результати вивчення ступеню впливу антисептиків в суббактеріостатичних дозах на процес передавання Ent-плазмід в різних умовах дослідів свідчать про наступне. З високою вірогідністю сполуки 5,10 і декаметоксин знижують вихід кон'югаційних рекомбінантів при обробленні як донора і реципієнта, так і кон'югаційної суміші. В дозі 20 мкг/мл аналогічна дія мірамістину і сполуки 5. Сполуки 16,20 і мірамістин в такій же дозі суттєво знижували вихід рекомбінантів при обробленні ними мікроба-реципієнта і кон'югаційної суміші. В цілому слід зауважити, що похідні четвертинного амонію в суббактеріостатичній концентрації впливають на процес кон'югації з передаванням Ent-плазмід та формуванні рекомбінантів при попередній обробці перш за все реципієнта. Мікроб-донор проявив значно меншу чутливість до антисептиків групи четвертинного амонію, за виключенням декаметоксину.

Результати проведеного експерименту свідчать за достатньо високу активність антисептиків групи четвертинного амонію щодо попередження передавання Ent-плазмід в процесі кон'югації, при цьому ступінь цієї активності більш виражена при обробці антисептиком сумісно донора і реципієнта та кон'югаційної суміші. Обробка антисептиками тест-мікроба з детермінованою Hly-плазмідною фактично не впливала на вихідні дані дослідів.

По аналогії проведено експерименти для визначення ступеню впливу похідних аміноцукрів і четвертинного амонію на елімінацію K-плазмід та їх передавання в процесі кон'югації. В цій серії дослідів використано штами *E.coli* 5-3 R drd (з плазмидами Str, Chl, Amp) та *E.coli* 1-5-3-R₁₋₁₆ (з плазмідною Km). Попередньо означена МБстК антисептиків щодо взятих в дослід тест-мікробів. Реакційну суміш (МПБ + антисептик + чотирьохгодинний звісок мікробів) інкубували 18-24 години при 37°C, серійно розводили ізотонічним розчином кухонної солі і проводили висів 0,1 мл суміші на щільне живильне середовище (МПА). Термостатували на протязі двох діб. З кожної чашки Петрі ізолювали мікроби з 20 типових колоній і визначали відсоток чутливих до канаміцину мікробів. Результати дослідів ілюструють дані таблиці 5.

Таблиця 1 Вплив антисептиків на процес елімінації плазмід *E.coli* KS112 Hly (Km)

Антисептики	Доза, мкг/мл	Кількість клітин <i>E.coli</i> KS112Hly (Km), М±т на:				Р
		м 'ясо-пептонний агар		м 'ясо-пептонний агар + канаміцин (20 мкг/мл)		
		М ± т	Р ₁	М ± т	Р ₁	
Сполука 5	10,0	5,2±1,6x10 ⁷	>0,05	3,8±1,1x10 ⁷	>0,05	0,47
	20,0	2,7±1,1x10 ⁷	>0,05	6,4±1,4x10 ⁷	>0,05	0,04
	50,0	2,0±0,5x10 ⁷	<0,05	5,2±1,0x10 ⁷	>0,05	0,05
Сполука 10	10,0	4,7±0,3x10 ⁷	>0,05	3,0±0,3x10 ⁷	>0,05	<0,05
	20,0	3,8±0,4x10 ⁷	>0,05	1,0±0,09x10 ⁷	<0,05	<0,05
	50,0	2,0±0,3x10 ⁷	<0,05	1,0±0,1x10 ⁷	<0,05	0,002
Сполука 16	10,0	5,6±1,6x10 ⁷	>0,05	2,7±0,6x10 ⁷	>0,05	0,093
	20,0	5,1±1,2x10 ⁷	>0,05	2,0±0,3x10 ⁷	<0,05	0,014
	50,0	3,9±1,3x10 ⁷	>0,05	1,3±0,1x10 ⁷	<0,05	0,049
Сполука 20	10,0	6,3±1,8x10 ⁷	>0,05	3,8±1,1x10 ⁷	>0,05	0,239
	20,0	1,0±0,4x10 ⁷	<0,05	2,4±0,8x10 ⁷	>0,05	0,121
	50,0	1,0±0,7x10 ⁷	<0,05	3,3±0,5x10 ⁷	>0,05	0,009
Декаметоксин	10,0	6,4±1,2x10 ⁷	>0,05	1,6±0,1x10 ⁷	<0,05	0,05
	20,0	5,2±0,8x10 ⁷	>0,05	1,0±0,05x10 ⁷	<0,05	<0,05
	50,0	4,0±1,1x10 ⁷	>0,05	1,0±0,08x10 ⁷	<0,05	0,08
Мірамістин	10,0	5,7±1,4x10 ⁷	>0,05	43:1,1x10 ⁷	>0,05	0,402
	20,0	1,0±0,3x10 ⁷	<0,05	6,3±1,5x10 ⁷	>0,05	<0,05
	50,0	1,0±0,4x10 ⁷	<0,05	2,8±1,0x10 ⁷	>0,05	0,098
Контроль		7,4±2,1x10 ⁷		7,1±2,8x10 ⁷		0,932

Примітка: Р₁ - показує, чи є розходження в результуючих значеннях між конкретним антисептиком і контролем статистично значимими; Р - визначено при порівнянні визначення М для одного антисептика в різних дозах.

Таблиця 2 Вплив антисептиків на процес передавання НІу - плазмід при різних варіантах оброблення клітин мікробів - кон'югантів

Антисептики	Доза, мкг/мл	Вихід рекомбінантів при обробленні мікробів антисептиками (M±т)								
		1) Донора E.coli KS112 НІу (Km)			2) Реципієнта E.coli 200 PS			3) Кон'югаційної суміші		
		M ± т	P ₁	P ₂ (1-2)	M±т	P ₁	P ₂ (2-3)	M ± т	P ₁	P ₂ (1-3)
Сполука 5	10,0	6,3±1,1x10 ⁶	>0,05	<0,05	7,4±1,2x10 ⁵	<0,05	>0,05	2,9±1,0x10 ⁶	>0,05	<0,05
	20,0	4,7±1,8x10 ⁶	>0,05	<0,05	2,8±1,0x10 ⁴	<0,05	>0,05	3,4±1,0x10 ⁵	<0,05	<0,05
Сполука 10	10,0	3,0±1,4x10 ⁶	>0,05	>0,05	7,0±1,1 x10 ⁵	<0,05	>0,05	2,4±1,1 x10 ⁶	>0,05	>0,05
	20,0	3,9±1,2x10 ⁶	>0,05	<0,05	1,2±0,6x10 ⁴	<0,05	>0,05	1,2±1,4x10 ⁵	<0,05	<0,05
Сполука 16	10,0	6,2±1,1 x10 ⁶	>0,05	<0,05	6,9±1,4x10 ⁵	<0,05	<0,05	3,2±1,0x10 ⁶	>0,05	<0,05
	20,0	3,0±0,7x10 ⁴	<0,05	>0,05	1,3±0,9x10 ⁴	<0,05	<0,05	1,2±0,1x10 ⁵	<0,05	<0,05
Сполука 20	10,0	7,1±1,4x10 ⁶	>0,05	<0,05	7,3±1,1 x10 ⁵	<0,05	>0,05	2,6±0,9x10 ⁶	>0,05	<0,05
	20,0	2,3±0,9x10 ⁴	<0,05	>0,05	1,4±0,8x10 ⁴	<0,05	<0,05	1,0±0,4x10 ⁵	<0,05	<0,05
Декаметоксин	10,0	2,8±0,3x10 ⁶	>0,05	<0,05	2,3±0,9x10 ⁵	<0,05	>0,05	1,9±0,8x10 ⁵	<0,05	<0,05
	20,0	2,1±0,4x10 ⁴	<0,05	>0,05	1,0±0,08x10 ⁴	<0,05	<0,05	1,1±0,09x10 ⁵	<0,05	<0,05
Мірамістін	10,0	5,9±1,2x10 ⁶	>0,05	<0,05	7,0±1,4x10 ⁵	<0,05	>0,05	2,7±1,2x10 ⁶	>0,05	<0,05
	20,0	3,2±0,8x10 ⁶	>0,05	<0,05	1,8±0,6x10 ⁴	<0,05	<0,05	2,4±1,0x10 ⁶	>0,05	>0,05
Контроль	—	3,9±1,2x10 ⁶			3,9±1,2x10 ⁶			3,9±1,2x10 ⁶		

Примітка: P₁- показує, чи є розходження в результуючих значеннях між конкретним антисептиком і контролем статистично значимими; P₂ - показує, чи є розходження в результатах статистично значимих при порівнянні визначення M для одного антисептика в різних дозах

Таблиця 3 Ступінь впливу похідних аміноцукрохінолінію четвертинного амонію на процес елімінації Ent-плазмід тест-мікробу E.coli pAP 10-2 ii Tng

Антисептики	Доза, мкг/мл	Кількість клітин E.соїі рAP 10-2 ii Tng на:				P
		МПА (M±т)	P ₁ <0,05	МПА з левоміцетином (M±т)	P ₁ <0,05	
Сполука 5	10,0	5,8x10 ⁷ ±1,0	<0,05	4,2x10 ⁷	>0,05	0,193
	20,0	7,3x10 ⁶ ±1,2	<0,05	7,0x10 ⁶	>0,05	0,954
Сполука 10	10,0	7,1x10 ⁷ ±1,6	<0,05	2,2x10 ⁴	<0,05	<0,05
	20,0	3,8x10 ⁷ ±0,9	<0,05	1,1x10 ⁴	>0,05	0,007
Сполука 16	10,0	5,8x10 ⁷ ±0,9	<0,05	3,2x10 ⁵	>0,05	<0,05
	20,0	4,0x10 ⁷ ±1,0	<0,05	2,2x10 ⁴	<0,05	<0,05
Сполука 20	10,0	6,4x10 ⁷ ±1,1	<0,05	3,8x10 ⁶	>0,05	<0,05
	20,0	4,6x10 ⁷ ±0,4	<0,05	2,4x10 ⁶	>0,05	<0,05
Декаметоксин	10,0	7,0x10 ⁷ ±1,1	<0,05	2,4x10 ⁵	>0,05	<0,05
	20,0	5,2x10 ⁷ ±1,2	<0,05	1,9x10 ⁴	<0,05	<0,05
Мірамістин	10,0	5,8 x 10 ⁷ ±0,9 7,6	<0,05	5,4x10 ⁷	>0,05	0,0779
	20,0	x 10 ⁷ ±1,0	<0,05	7,2x10 ⁶	>0,05	<0,05
Контроль	без антисептика	2,7x10 ⁵ ±0,8		2,7x10 ⁵ ±0,8		

Примітка: P₁- показує, чи є розходження в результуючих значеннях між конкретним антисептиком і контролем статистично значимими; P - визначено при порівнянні визначення M для одного антисептика

Таблиця 4 Вплив антисептиків групи аміноцукрохінолінію та четвертинного амонію на процес елімінації Ent-плазмід при кон'югації

Антисептики	Доза, мкг /мл	Вихід рекомбінантів при обробленні мікробів антисептиками $M \pm t$ на:												P_2	
		1) Обробка антисептиком донора			2) Обробка антисептиком реципієнта i			3) Обробка антисептиком донора i			4) Додавання антисептика до кон'югаційної				
		$M \pm t$	P_1	P_2 1-2	$M \pm t$	P_1	P_2 2-3	$M \pm t$	P_1	P_2 3-4	$M \pm t$	P_1	P_2 4-1	P_2 1-3	P_2 2-4
Сполука 5	10,0	$0,7 \pm 0,1 \times 10^4$	<0,05	<0,05	$3,1 \pm 1,0 \times 10^4$	>0,05	>0,05	$4,0 \pm 0,9 \times 10^4$	>0,05	>0,05	$1,7 \pm 0,3 \times 10^4$	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
	20,0	$0,5 \pm 0,07 \times 10^4$	<0,05	>0,05	$2,1 \pm 0,4 \times 10^4$	>0,05	>0,05	$1,7 \pm 0,6 \times 10^4$	>0,05	<0,05	$1,2 \pm 0,4 \times 10^3$	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
Сполука 10	10,0	$0,9 \pm 0,4 \times 10^4$	<0,05	>0,05	$3,2 \pm 0,9 \times 10^3$	>0,05	>0,05	$3,7 \pm 0,3 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$1,9 \pm 0,06 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	20,0	$0,8 \pm 0,3 \times 10^4$	<0,05	>0,05	$2,1 \pm 0,04 \times 10^3$	<0,05	<0,05	$1,6 \pm 0,1 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$2,1 \pm 0,3 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Сполука 16	10,0	$1,1 \pm 0,09 \times 10^4$	>0,05	<0,05	$2,8 \pm 0,3 \times 10^4$	>0,05	<0,05	$3,4 \pm 0,1 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$2,6 \pm 0,1 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	20,0	$2,6 \pm 0,3 \times 10^4$	>0,05	>0,05	$1,4 \pm 0,1 \times 10^4$	<0,05	<0,05	$0,9 \pm 0,05 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$2,0 \pm 0,3 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Сполука 20	10,0	$0,7 \pm 0,1 \times 10^4$	<0,05	<0,05	$3,6 \pm 0,4 \times 10^4$	>0,05	<0,05	$2,7 \pm 0,1 \times 10^3$	>0,05	<0,05	$2,3 \pm 0,1 \times 10^3$	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	20,0	$1,1 \pm 0,06 \times 10^4$	>0,05	>0,05	$1,6 \pm 0,1 \times 10^4$	>0,05	<0,05	$1,1 \pm 0,2 \times 10^3$	>0,05	<0,05	$1,6 \pm 0,09 \times 10^3$	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Декаметоксин	10,0	$0,9 \pm 0,2 \times 10^4$	<0,05	<0,05	$2,7 \pm 0,2 \times 10^3$	>0,05	<0,05	$2,9 \pm 0,1 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$2,0 \pm 0,1 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	20,0	$0,5 \pm 0,1 \times 10^4$	<0,05	<0,05	$1,9 \pm 0,1 \times 10^3$	<0,05	<0,05	$1,0 \pm 0,09 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$1,3 \pm 0,06 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Мірамістин	10,0	$0,9 \pm 0,3 \times 10^4$	<0,05	>0,05	$3,2 \pm 0,3 \times 10^4$	>0,05	<0,05	$3,6 \pm 0,3 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$1,5 \pm 0,1 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	20,0	$0,6 \pm 0,1 \times 10^4$	<0,05	>0,05	$1,4 \pm 0,1 \times 10^4$	>0,05	<0,05	$1,3 \pm 0,1 \times 10^2$	<0,05	<0,05	$1,0 \pm 0,03 \times 10^2$	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Контроль	-	$2,1 \pm 0,6 \times 10^4$			$2,1 \pm 0,6 \times 10^4$			$2,1 \pm 0,6 \times 10^4$			$2,1 \pm 0,6 \times 10^4$				

Примітка: P_1 - показує, чи є розходження в результативних значеннях між конкретним антисептиком і контролем статистично значимими; P_2 - показує чи є розходження в результатах статистично значимими при порівнянні значень M для одного антисептика.

Таблиця 5 Ступінь впливу похідних аміноцукрохіноліну та четвертинного амонію на процес елімінації R-плазмід

Тест-культура	Антисептики	Доза (0,5 МБстК), мкг/мл	Кількість досліджених ізолятів		Кількість колоній мікробів, чутливих до канаміцину		Частота прояву чутливості до канаміцину, %
			(M±t)	P ₁	(M±t)	P ₁	
E.coli 5-3Rdrd (Str, Chl, Amp)	Сполука 5	15,6	92±7,11	<0,05	2±0,07	>0,05	2,2
	Сполука 10	15,6	134±8,24	>0,05	17±0,92	<0,05	12,7
	Сполука 16	15,6	84±4,86	<0,05	5±0,09	<0,05	6,0
	Сполука 20	15,6	112±9,05	>0,05	6±0,06	<0,05	5,4
	Декаметоксин	7,8	126±5,3	>0,05	21±0,84	<0,05	16,7
	Мірамістин	7,8	168±8,43	<0,05	11±0,22	<0,05	6,55
E.coli 1-5-3-R ₁₋₁₆ (контроль)	без антисептика	-	124±4,14		3±0,07	0	2,42

Примітка: P₁ - показує, чи є розходження в результуючих значеннях між конкретним антисептиком і контролем статистично значимими.

Таблиця 6 Результати впливу антисептиків групи четвертинного амонію на процес передавання R-плазмід при кон'югації в різних умовах досліді (селективний маркер - Km)

	Доза, мкг/мл	Кінцевий вихід рекомбінантів (M± т) при обробці антисептиком:												P ₂ 1-3 P ₂ 2-4	
		1) донора E.coli 5-3 R ₁₋₁₆ (K _T)			2) реципієнта E.coli C ₆₀₀ (Str)			3) донора і реципієнта			4) кон'югаційної суміші				
		M± т	P ₁	P ₂ 1-2	M± т	P ₁	P ₂ 2-3	M± т	P ₁	P ₂ 3-4	M± т	P ₁	P ₂ 4-1		
Сполука 5	10,0 20,0	4,8±1,0x10 ⁶ 3,6±0,7x10 ⁶	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05	3,9±0,7x10 ⁶ 2,7±0,11x10 ⁶	>0,05 >0,05	<0,05 <0,05	6,1±1,2x10 ⁵ 3,9±1,0x10 ⁵	<0,05 <0,05	>0,05 >0,05	3,8±0,7x10 ⁵ 2,1 ±0,4x10 ⁵	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05
Сполука 10	10,0 20,0	3,9±1,1x10 ⁶ 2,7±0,6x10 ⁶	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05	4,2±0,9x10 ⁶ 2,1 ±0,6x10 ⁶	>0,05 >0,05	<0,05 <0,05	4,4±1,0x10 ⁵ 1,6±0,4x10 ⁵	<0,05 <0,05	>0,05 >0,05	3,6±0,4x10 ⁵ 1,8±0,6x10 ⁴	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05
Сполука 16	10,0 20,0	4,6±0,9x10 ⁶ 3,2±0,9x10 ⁵	>0,05 <0,05	>0,05 >0,05	3,2±1,0x10 ⁶ 1,7±0,4x10 ⁵	>0,05 <0,05	>0,05 >0,05	3,6±0,9x10 ⁵ 1,2±0,2x10 ⁵	<0,05 <0,05	>0,05 >0,05	4,7±1,2x10 ⁵ 2,6±0,7x10 ⁵	<0,05 <0,05	<0,05 >0,05	<0,05 >0,05	<0,05 >0,05
Сполука 20	10,0 20,0	3,8±1,1x10 ⁶ 2,4±0,7x10 ⁶	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05	4,3±0,7x10 ⁶ 2,1 ±0,4x10 ⁶	>0,05 >0,05	<0,05 <0,05	4,8±0,4x10 ⁵ 2,7±0,8x10 ⁵	<0,05 <0,05	>0,05 >0,05	4,2±0,9x 10 ⁵ 1,4±0,2x10 ⁵	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05	<0,05 <0,05
Декаметоксин	10,0 20,0	3,2±1,0x10 ⁵ 4,9±1,1x10 ⁴	>0,05 <0,05	<0,05 <0,05	4,1±1,1x10 ⁶ 3,2±0,7x10 ⁵	>0,05 <0,05	<0,05 <0,05	3,8±1,1x10 ⁵ 1,9±0,7x10 ⁴	<0,05 <0,05	>0,05 >0,05	2,9±0,3x10 ⁵ 3,4±1,0x10 ⁴	<0,05 <0,05	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05	<0,05 <0,05
Мірамістин	10,0 20,0	5,4±1,0x10 ⁵ 2,6±0,9x10 ⁴	>0,05 <0,05	>0,05 <0,05	5,2±1,8x10 ⁵ 3,1 ±0,4x10 ⁵	>0,05 <0,05	>0,05 >0,05	5,1 ±0,9x10 ⁵ 1,6±0,4x10 ⁵	<0,05 <0,05	>0,05 >0,05	3,8±0,4x10 ⁵ 2,3±0,7x-10 ⁵	<0,05 <0,05	>0,05 <0,05	>0,05 <0,05	>0,05 >0,05
Контроль	-	2,7±0,3x10 ⁶			2,7±0,3x10 ⁶			2,7±0,3x10 ⁶			2,7±0,3x10 ⁶				

Примітка: P₁ - показує, чи є розходження в результуючих значеннях між конкретним антисептиком і контролем статистично значимими; P₂ - показує чи є розходження в результатах статистично значимих при порівнянні значень M для одного антисептика в різних дозах.

Одержані результати свідчать за суттєвий вплив на процес передавання плазмід резистентності суббактеріостатичних доз декаметоксину, сполук 5 і 10 (в порівнянні з контролем $P < 0,05$). Поява поодиноких Km-чутливих колоній в контролі та в досліді з використанням інших аміноцукрохінолінів та мірамістину, можливо, обумовлені спонтанною втраченою R-плазмід, що нерідко зустрічається в досліді аналогічного напрямку.

Вплив похідних четвертинного амонію на процес передавання R-плазмід при кон'югації досліджено з використанням в якості донора штама *E.coli* 1-5-3-R₁₋₁₆ та в якості реципієнта - *E.coli* C-600(Str). Клітини донора і реципієнта, а також кон'югаційну суміш обробляли антисептиками в суббактеріостатичних дозах (0,2 – 0,5 МБстК). Після завершення періоду кон'югації через 2 години проводили висів 0,1 мл реакційної суміші на селективні щільні живильні середовища з додатком канаміцину (25 мкг/мл) і стрептоміцину (100 мкг/мл). Підрахунок кількості рекомбінантів в дослідній серії в контролі проводили після дводобового інкубування чашок Петрі при 37 °С. Результати досліді подано в таблиці 6.

Одержані дані свідчать про досить виражений вплив гетероциклічних похідних аміноцукрохіноліну та четвертинного амонію на процес передавання плазмід антибіотикорезистентності шляхом кон'югації. Вірогідно всі взяті в досліді антисептики знижували вихід рекомбінантів при одночасній обробці ними тест-мікробів донорів і реципієнтів та кон'югаційної суміші. При обробці тільки мікробадонора суттєво інгібували процес кон'югації декаметоксин і мірамістин. В протигагу описаному вище явищу передачі Hly-плазмід в кон'югації при умові попередньої обробки реципієнта R-плазмід антисептиками кінцевий вихід рекомбінантів вірогідно не знижувався.

Література

1. Палій В.Г. Мікробіологічне обґрунтування застосування антисептиків четвертинного амонію в медицині: Автореф. дис. ... докт. мед. наук/ Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України. - Харків, 2006.-48 с.
2. Адарченко А.А., Красильников А.П., Собешук О.П. Сравнительное исследование активности антибиотиков в отношении *Staphylococcus aureus* // Антибиотики и химиотерапия. - 1991. - Т. 36, № 2. - С. 21-24.
3. Маянский А.Н. Микробиология для врачей (очерки патогенетической микробиологии). - Нижний Новгород: НГМА, 1999. - 395 с.
4. Kovacs K., Paterson D.L., Yu V.L. Antimicrobial Therapy for *Pseudomonas aeruginosa*: Therapeutic Issues; Resistance; Pneumonia; Endocarditis; and Infections of the GLTract, Bone and Joint, and Urinary* Tract // Infect. Med. -1998. - Т. 15, № 2. - С.385 - 394.
5. Большакова Г.М. Роль умовно патогенних мікроорганізмів в розвитку запальних процесів слинних залоз: Дис. ... канд. мед. наук: 03.00.07;- Захищена

21.03.2007; Затв. 14.06.2007.- Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України. - Харків, 2007.-187 с.

6. Навашин СМ. Цефалоспорины // Клиническая фармакология и терапия. - 1998. - Т.3., № 2. - С. 16 - 19.
7. Сидоренко С.В. Происхождение, эволюция и клиническое значение антибиотикорезистентности // Антибиотики и химиотерапия. - 1999. - 44, №12. - С. 19-22
8. Mariap Mc.G., Kleger A., Leake E.S. Toxyty of *Staphylocococoeae* alpha toxin for rabbit alveolar macrophages // Infect, and Immun. - 1999. - Vol. 39. - N 10.-P. 439-444.
9. Виевский А.Н. Механизмы биологического влияния катионных поверхностно-активных веществ. - К., 1991. - 250 с.
10. Афиногенов Г.Е. Влияние ПАВ на элиминацию, генетический перенос и биохимические механизмы реализации R-плазмид у бактерий // На главных путях биологического прогресса (6 съезд Всесоюзного +микробиологического общества). - Рига, 1995. - Т. 2. - С.9.
11. Yoshikawa M. Drug sensitivity and mutability to drug resistance associated with the presence of the R-factor // Genet. Res. - 1971. - Vol. 17.-P.I-17

УДК 615.015.2:[613.33+615.28]:57.083.1

СТУПІНЬ ВПЛИВУ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ ПОХІДНИХ АМІНОЦУКРОХІНОЛІНІЮ НА ЕЛІМІНАЦІЮ ПЛАЗМІД АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ

Руденко С.С.

Означено вплив гетероциклічних похідних аміноцукрохіноліну та четвертинного амонію в суббактеріостатичних дозах (10-20 мкг/мл) на елімінацію R, Hly, Ent в процесі кон'югації. Результати досліджень можуть бути використані в клінічній медицині для раціоналізації хіміотерапії та хіміопротекції.

Ключові слова: похідні аміноцукрохіноліну і четвертинного амонію, кон'югація, плазмиди стійкості до протимікробних засобів.

УДК 615.015.2:[613.33+615.28]:57.083.1

СТЕПЕНЬ ВЛИЯНИЯ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОСАХАРОХИНОЛИНИЯ НА ЭЛИМИНАЦИЮ ПЛАЗМИД АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Руденко С.С.

Определено влияние гетероциклических производных аминсахаролина и четвертичного аммония в суббактериостатических дозах (10-20 мкг/мл) на элиминацию R, Hly, Ent в процессе конъюгации. Результаты исследований могут быть использованы в клинической медицине для рационализации химиотерапии и химиопротекции.

Ключевые слова: производные аминсахаролина и четвертичного аммония, конъюгация, плазмиды стойкости к противомикробным средствам.

UDC 615.015.2:[613.33+615.28]:57.083.1
THE INFLUENCE OF HETEROCYCLIC
AMINOSUGARCHINOLINE DERIVANTS ON
ELIMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE
PLASMIDS

Rudenko S.S.

The influence of heterocyclic aminosugarchinoline and quaternary ammonium derivants in subbacteriostatic doses (10-20 µg/ml) on elimination of R, Hly., Ent in conjugation process was determined. The results can be used in clinical medicine for chemotherapy rationalization and chemoprophylaxis.

Key words: aminosugarchinoline and quaternary ammonium derivants, anti-microbial agents resistance plasmids.