

УДК 615.33:577.4

ВЛИЯНИЕ ЦЕФТРИАКСОНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИКРОСООБЩЕСТВ МОДЕЛЬНЫХ ГИДРОЭКОСИСТЕМ

© 2011 З.Е. Мащенко¹, Р.В. Шафигулин¹, И.Ф. Шаталаев²

¹ Самарский медицинский институт «Реавиз»

² Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 18.05.2011

В работе представлены данные динамики дегидрогеназной активности водных микроорганизмов при действии цефтриаксона в зависимости от концентрации и времени инкубации в аэробно-анаэробных условиях. Показана возможность биодеструкции цефтриаксона водными микроорганизмами активного ила.

Ключевые слова: антибиотики, цефтриаксон, дегидрогеназная активность ила, биодеструкция

В последние годы в литературе обсуждается проблема, связанная с появлением фармацевтических препаратов в окружающей среде и их влиянием, на живые организмы. Около 100 различных лекарственных средств были обнаружены в воде при концентрациях от нг/л до мг/л. Концентрации этих веществ незначительны, однако они могут представлять угрозу, поскольку поступление последних в окружающую среду носит постоянный характер [3, 5]. Кроме того, лекарственные средства оказывают определенное биологическое действие на живые системы и обладают способностью к биоаккумуляции. Так, в тканях рыб были обнаружены препараты женских половых гормонов, что приводит к эстрогенному эффекту на рыб мужского пола [4]. Наблюдается существенное увеличение загрязнения окружающей среды антимикробными средствами. Присутствие в воде антибиотиков составляет особую проблему, заключающуюся в стимулировании селекции патогенной микрофлоры, обладающей устойчивостью к названным средствам.

В настоящее время все городские сточные воды, поступающие на станции аэрации, содержат препараты противомикробного действия в различных концентрациях. В значительных количествах они присутствуют в сточных водах медицинских учреждений и фармацевтических производств. Содержание антибиотиков зависит от численности населения, от времени года и некоторых других факторов [6]. Определение функционального состояния активных илов сооружений биологической очистки возможно с помощью биологических тестов. В частности, могут быть использованы данные изменения

общей дегидрогеназной активности ила, снижение которой по отношению к контролю свидетельствуют об ингибирующем влиянии компонентов сточных вод на ферментные системы микроорганизмов активного ила [1, 2].

Цель работы: исследование возможности биодеструкции цефтриаксона водными микроорганизмами активного ила.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служил антибиотик группы цефалоспоринов – цефтриаксон. Цефалоспорины классифицируются на 4 группы (на основе спектра их действия). Выбранный антибиотик относится к цефалоспориновому третьему поколения, химическое строение которого представлено на рис. 1.

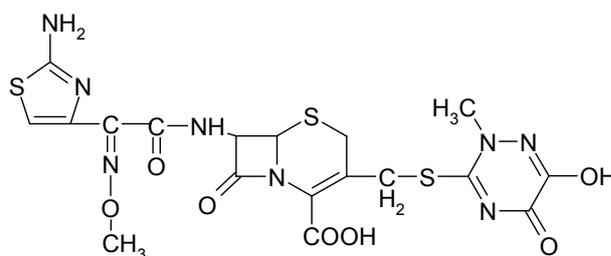


Рис. 1. Химическая структура цефтриаксона

В экспериментах использовали активный ил регенератора первой секции аэраторов городской станции МП «Самараводоканал». Инкубацию осуществляли в течение 4 часов при температуре 20⁰С в аэробно-анаэробных условиях; отбор проб проводили через каждый час. Концентрацию цефтриаксона варьировали в количестве 10-70 мг/г биомассы. Определение дегидрогеназной активности проводили по методике, основанной на восстановлении индикатора 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида с последующим фотометрическим анализом полученных растворов. Изменение дегидрогеназной активности в пробах рассчитывали как процентное отношение оптической плотности в опытной пробе к оптической плотности в контрольной пробе.

Мащенко Зинаида Евгеньевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации. E-mail: mzi-naida@yandex.ru

Шафигулин Роман Владимирович, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры фармации. E-mail: shafiro@mail.ru

Шаталаев Иван Федорович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой химии фармацевтического факультета. E-mail: shatalaev@list.ru

Содержание цефтриаксона устанавливали методом обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на «Милихром -1» с УФ-детектором с рабочей длиной волны 254 нм. Использовали колонку Ultrasep ES 100 RP18 (длина 120 мм), заполненную сорбентом C18 с размером частиц 4 мкм. В качестве подвижной фазы применяли ацетонитрил/вода/CH₃COONH₄ в соотношении 10/88/2 об.%. Для обработки результатов использовали программу «Мульти-Хром» 3,0v (Ampersand LTd). В качестве контроля применялись водные растворы антибиотика с такими же концентрациями. Контрольные образцы служили для того, чтобы подтвердить отсутствие пассивного гидролиза или фотолиза цефтриаксона. Изменение содержания цефтриаксона в пробах рассчитывали как процентное отношение площади пика цефтриаксона на хроматограмме опытной пробы к площади пика на хроматограмме контрольной пробы.

Результаты и их обсуждение. В таблице 1 приведена динамика изменения активности дегидрогеназ при действии цефтриаксона в диапазоне концентраций 10-70 мг/г биомассы.

Таблица 1. Изменение дегидрогеназной активности при действии цефтриаксона, в %

Концентрация антибиотика, мг/г биомассы	Дегидрогеназная активность, %			
	время инкубации, час			
	1	2	3	4
10	-6,49	-18,98	-23,50	15,10
20	-2,42	-14,26	2,19	0,86
30	-5,71	-11,11	21,73	1,92
40	11,02	-14,55	13,66	-4,60
50	9,91	-18,84	5,72	-0,96
60	11,64	-26,82	0,57	2,88
70	7,89	-20,00	-6,24	0,60

На рис. 2 показана динамика изменения дегидрогеназной активности при действии цефтриаксона в различных концентрациях в зависимости от времени инкубации. Цефтриаксон в концентрациях 10-30 мг/г биомассы в течение первого часа инкубации приводил к снижению активности дегидрогеназ. Серии экспериментов с содержанием антибиотика 40-70 мг/г биомассы показали увеличение активности ферментов. В течение следующего часа наблюдали уменьшение дегидрогеназной активности во всех исследуемых концентрациях. К третьему часу инкубации исследуемый антибиотик в концентрациях 20-70 мг/г биомассы приводил к незначительной активации ферментов. К завершению эксперимента практически во всех пробах активность ферментов достигала уровня контроля.

В таблице 2 приведена динамика изменения содержания цефтриаксона в активном иле при действии антибиотика в диапазоне концентраций 10-70 мг/г биомассы.

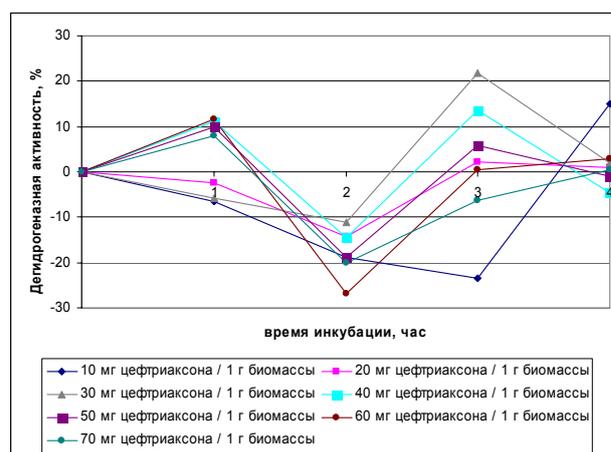


Рис. 2. График зависимости дегидрогеназной активности ила от концентрации цефтриаксона во времени инкубации

Таблица 2. Изменение содержания цефтриаксона в активном иле, в %

Концентрация антибиотика, мг/г биомассы	Содержание цефтриаксона, %			
	Время инкубации, час			
	1	2	3	4
10	-37,96	-34,82	-53,62	-50,61
20	-36,16	-34,84	-40,13	-44,44
30	-29,11	-39,59	-41,53	-40,16
40	-43,25	-50,17	-51,71	-63,86
50	-27,85	-32,034	-43,00	-49,44
60	-24,92	-40,41	-32,15	-40,62
70	-34,22	-35,97	-41,51	-44,36

В течение первого часа инкубации отмечали уменьшение содержания цефтриаксона во всех исследуемых пробах в среднем на 30%. Двухчасовая экспозиция приводила к усилению процессов биодеструкции антибиотика в концентрациях 30-70 мг/г биомассы. На протяжении третьего часа инкубации во всем диапазоне исследуемых концентраций наблюдали усиление процессов биотрансформации фармацевтического препарата. Продолжение инкубации сопровождалось устойчивым снижением содержания исследуемого вещества во всех опытных образцах.

Выводы: проведенные эксперименты показали положительную динамику биодеструкции цефтриаксона водными микроорганизмами. Значительное уменьшение содержания количества вещества установлено в первые три часа эксперимента. Данные о активности дегидрогеназ водных микроорганизмов свидетельствуют о том, что указанный антибиотик в диапазоне исследуемых концентраций не представляет угрозы для микросообществ экосистемы. Полученные результаты указывают на возможность и целесообразность биологической очистки воды, содержащей цефтриаксон, на городских станциях аэрации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Шаталаев, И.Ф. Биотестирование токсичности сточных вод по дегидрогеназной активности ила. Методические рекомендации / И.Ф. Шаталаев. – Самара, СамГМУ, 1998. 6 с.
2. Приказ Министерства охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ №533 от 27 декабря 1995 г. О проведении эксперимента по внедрению методов биотестирования при оценке качества возвратных вод и взимания платы с учетом их токсичности.
3. *Boxall, A.* Veterinary medicines in the environment / *A. Boxall, L.A. Fogg, P. Blackwell et al.* // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 2004. № 180. P. 1-91.
4. *Kirby, M.F.* The presence of morphologically intermediate papilla syndrome in United kingdom populations of sand goby (*Pomatoschistus* spp.): endocrine disruption? / *M.F. Kirby, J. Bignell, E. Brown et al.* // *Environ. Toxicol. Chem.* 2003. № 22. P. 239-251.
5. *Kümmerer, K.* Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review // *Chemosphere.* 2001. № 45. P. 957-969.
6. *Lindberg, R.H.* Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden / *R.H. Lindberg, P. Wennberg, M. I. Johansson et al.* // *Environ. Sci. and Technol.* 2005. Vol. 39. № 10. P. 3421-3429.

CEFTRIAXON INFLUENCE ON THE FUNCTIONAL CONDITION OF MODEL HYDROECOSYSTEMS MICROCOMMUNITIES

© 2011 Z.E. Mashchenko¹, R.V. Shafigulin¹, I.F. Shatalaev²

¹ Samara Medical Institute "REAVIZ"

² Samara State Medical University

In work data about dynamics of dehydrogenase activity of water microorganisms at ceftriaxon action depending on concentration and incubation time in aerobic-anaerobic conditions is presented. Possibility of ceftriaxon biodestruction by water microorganisms in active silt is shown.

Key words: antibiotics, ceftriaxon, dehydrogenase activity of silt, biodestruction

Zinaida Mashchenko, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Pharmacy Department. E-mail: mzinaida@yandex.ru

Roman Shafigulin, Candidate of Chemistry, Senior Lecturer at the Pharmacy Department. E-mail: shafiro@mail.ru

Ivan Shatalaev, Doctor of Biology, Professor, Head of the Chemistry Department at the Pharmaceutical Faculty. E-mail: shatalaev@list.ru