

УДК 615.33:577.4

ВЛИЯНИЕ ЦЕФАЗОЛИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИКРОСООБЩЕСТВ МОДЕЛЬНЫХ ГИДРОЭКОСИСТЕМ

© 2012 З.Е. Машенко¹, И.Ф. Шаталаев²

¹ Самарский медицинский институт «Реавиз»

² Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 05.05.2012

В работе представлены данные динамики дегидрогеназной активности водных микроорганизмов при действии цефазолина в зависимости от концентрации и времени инкубации в аэробно-анаэробных условиях. Установлено влияние названного антибиотика на состав молекулярных форм малатдегидрогеназы водных микроорганизмов.

Ключевые слова: антибиотик, цефазолин, дегидрогеназная активность ила, малатдегидрогеназа

В последнее время растущий интерес во всем мире вызывает проблема присутствия фармацевтических препаратов в окружающей среде. Поступление лекарственных средств в водную среду связано с их широким применением в медицине и ветеринарии. Во многих странах мира было найдено множество противомикробных средств в промышленных сточных водах и водах, поступающих на городские очистные сооружения, а также в водоемах и даже в питьевой воде [4, 5]. Антибиотики являются чрезвычайно стойкими к биологическим процессам деградации, из-за непрерывного поступления они могут оставаться в окружающей среде в течение долгого времени. Систематическое загрязнение окружающей среды противомикробными средствами приводит к возникновению резистентных форм микроорганизмов и появлению возбудителей, устойчивых к названным препаратам [1]. 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 [2].

Машенко Зинаида Евгеньевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации. E-mail: mzinaida@yandex.ru

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

В литературе имеются сведения об уменьшения активности дегидрогеназ ила под действием сульфаниламидных препаратов (сульфацетамида, сульфаниламида, *n*-толуолсульфаниламида). Дегидрогеназная активность уменьшалась с увеличением концентрации лекарственных веществ, ингибирование ферментов было самым значительным под влиянием *n*-толуолсульфаниламида [6]. В качестве тест-контроля за функциональным состоянием водных микроорганизмов активного ила целесообразно применять ферменты аэробного метаболизма, в частности, малатдегидрогеназу (МДГ). Малатдегидрогеназа (МДГ, К.Ф. 1.1.1.37) – аэробный фермент и катализирует взаимопревращение малата в оксалоацетат. Указанный фермент играет важную роль в компенсации различных метаболических стрессов, возникающих в экстремальных условиях жизнедеятельности микроорганизмов. Так, установлены различные молекулярные формы МДГ активного ила в процессе окисления ксенобиотиков [3].

Цель работы: исследование влияния цефазолина на активность дегидрогеназ водных микроорганизмов активного ила.

Материалы и методы. Объектом исследования служил антибиотик группы цефалоспоринов – цефазолин. Цефалоспорины классифицируются на четыре группы (на основе спектра их действия). Выбранный антибиотик относится к цефлоспорином первого поколения, химическое строение которого представлено на рис. 1.

В экспериментах использовали активный ил регенератора первой секции аэраторов городской станции МП «Самараводоканал».

Инкубацию осуществляли в течение 24 часов при температуре 20°C в аэробно-анаэробных условиях. Отбор проб для определения дегидрогеназной активности проводили через 1, 2, 3, 4 и 24 часа. Концентрацию цефазолина варьировали в количестве 10-70 мг/г биомассы. Отбор проб для определения молекулярных форм МДГ проводили через 1 и 24 часа. Концентрацию цефазолина варьировали в количестве 10, 40 и 70 мг/г биомассы.

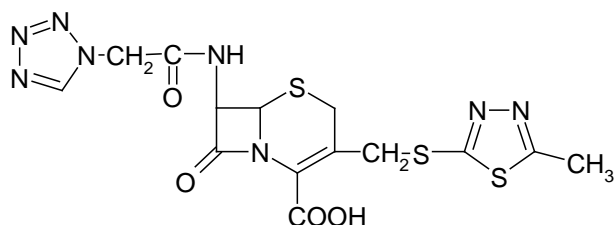


Рис. 1. Химическое строение цефазолина

Определение общей 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 [2]. Молекулярные формы МДГ устанавливали методом электрофореза в плоских блоках 7,5% полиакриламидного геля. В качестве электродного буфера использовали 1М трис-ЭДТА-боратный буфер (рН 9,2). Выявление изоформ МДГ проводили с помощью фенозинметасульфаттетразолиевой реакции в чашках Петри [3].

Результаты и их обсуждение. Динамика изменения дегидрогеназной активности при действии цефазолина представлена в таблице 1.

Таблица 1. Изменение общей дегидрогеназной активности ила при действии цефазолина, в %

Время инкубации, час	Концентрация антибиотика, мг/г биомассы						
	10	20	30	40	50	60	70
1	-13,10	-10,00	-16,15	-27,16	-20,93	-16,28	-16,45
2	-10,09	-25,00	-8,33	40,97	21,74	35,42	24,30
3	-3,68	-5,41	-27,03	-12,76	-8,10	-25,87	-5,76
4	-12,67	-8,00	9,00	17,39	13,50	17,39	13,04
24	-1,84	-16,09	-20,88	-17,43	11,61	4,52	4,72

В течение первого часа инкубации отмечали уменьшение активности ферментов во всех исследуемых пробах. Двухчасовая экспозиция приводила к повышению активности дегидрогеназ в концентрациях антибиотика 40-70 мг/г биомассы. Инкубация в течение трех часов во всем диапазоне исследуемых концентраций приводила к устойчивому снижению дегидрогеназной активности. При инкубации в течение четырех часов получили следующие результаты: серии экспериментов с концентрацией цефазолина 10-20 мг/г биомассы приводили к

незначительному снижению активности ферментов, а при концентрациях 30-70 мг/г биомассы к стабильному увеличению дегидрогеназной активности. В течение 24 часов инкубации отмечали уменьшение активности в пробах с концентрациями антибиотика 10-40 мг/г биомассы, а при концентрациях 50-70 мг/г биомассы дегидрогеназная активность незначительно превышала контроль. В таблице 2 представлен состав молекулярных форм МДГ в эксперименте при действии цефазолина после 1 часа и 24 часов инкубации.

Таблица 2. Изменение состава молекулярных форм МДГ в активном иле

Молекулярные формы	Контроль		Концентрация антибиотика, мг/г биомассы					
			10		40		70	
	1 час R _f	24 часа R _f	1 час R _f	24 часа R _f	1 час R _f	24 часа R _f	1 час R _f	24 часа R _f
МДГ-1	0,93	0,94	0,94	0,91	0,93	0,96	0,93	0,96
						0,9		0,91
МДГ-2	-	0,81	-	0,8	-	0,81	-	-
		0,69		0,68		0,73		
		0,56						
МДГ-3	0,40	0,38	0,4	0,4	0,42	0,41	0,4	0,4
			0,25	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29

В течение первого часа инкубации в контроле выявили две молекулярные формы фермента – МДГ-1 и МДГ-3. При действии цефазолина различной концентрации на микроорганизмы активного ила также выявлены две молекулярные формы фермента, причем в области МДГ-3 установлено две активные зоны. По истечению суток в контрольной пробе установили три формы МДГ (МДГ-1, МДГ-2 и МДГ-3), при этом в области МДГ-2 представлена в виде трех зон активности. В опытных сериях при инкубации с цефазолином МДГ представлена в следующем составе молекулярных форм: в пробе с содержанием антибиотика 10 мг/г биомассы число активных зон МДГ-2 и МДГ-3 становится равным двум; при инкубации 40 мг/г биомассы число активных зон МДГ-2 и МДГ-3 не меняется, но в области МДГ-1 установлены две активные зоны. При инкубации цефазолина в концентрации 70 мг/г биомассы МДГ-2 не выявлена.

Выводы: проведенные эксперименты показали вероятность индукции молекулярных форм МДГ активного ила в процессе биодеструкции цефазолина. Установлено последовательное включение молекулярных форм малатдегидрогеназы в процессы окисления антибиотика. Данные о динамике общей активности дегидрогеназ водных микроорганизмов свидетельствуют о том, что цефазолин в диапазоне

исследуемых концентраций не представляет угрозы для микросообществ гидроэкосистемы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ларцева, Л.В. Мониторинг антибиотикорезистентности энтеробактерий, изолированных во внутренних водах города Астрахани / Л.В. Ларцева, А.А. Истелюева, А.В. Менькова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13, № 1(6). С. 1350-1353.
2. Шаталаев, И.Ф. Биотестирование токсичности сточных вод по дегидрогеназной активности ила. Методические рекомендации / И.Ф. Шаталаев. – Самара, СамГМУ, 1998. 6 с.
3. Шаталаев, И.Ф. Молекулярные формы малатдегидрогеназы активного ила в процессе очистки сточных вод на городских станциях аэрации / И.Ф. Шаталаев, М.М. Телитченко // Химия и технология воды. 1992. Т. 14. № 9. С. 713-717.
4. 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.
5. 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.
6. Makuch, A. The effect of sulphonamides on activated sludge dehydrogenase activity / A. Makuch, K. Medrzycka, E. Plaza. <http://www2.lwr.kth.se/For-skningsprojekt/Polishproject/rep16/MakuchMedrzycka.pdf> (дата обращения 02.05.2012)

INFLUENCE OF CEFAZOLINUM ON THE FUNCTION CONDITION OF MODEL HYDROECOSYSTEMS MICROCOM- MUNITIES

© 2012 Z.E. Mashchenko¹, I.F. Shatalayev²

¹ Samara Medical Institute "Reaviz"

² Samara State Medical University

In work data of dynamics of dehydrogenase activity of water microorganisms at Cefazolinum action depending on concentration and incubation time in aerobic and anaerobic conditions are represented. Influence of the called antibiotic on structure of molecular forms of a malate dehydrogenase of water microorganisms is established.

Key words: *antibiotic, Cefazolinum, silt dehydrogenase activity, malate dehydrogenase*

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

Ivan Shatalayev, Doctor of Biology, Professor, Head of the Chemistry Department of the Pharmacy Faculty. E-mail: shatalayev@list.ru