

## ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА НА РОСТ БАКТЕРИЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИНКТОРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

© 2023 г. В. П. Коробов<sup>а</sup>, Б. Ц. Шагдарова<sup>б</sup>, В. П. Варламов<sup>б,с</sup>, А. Л. Есаев<sup>а</sup>, Т. В. Полудова<sup>д, \*</sup>

<sup>а</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, 614081 Россия

<sup>б</sup>Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 119071 Россия

<sup>с</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, 420008 Россия

<sup>д</sup>Пермский государственный аграрно-технологический университет  
им. ак. Д.Н. Прянишникова, Пермь, 614990 Россия

\*e-mail: polyudova@iegm.ru

Поступила в редакцию 11.11.2022 г.

После доработки 22.11.2022 г.

Принята к публикации 23.11.2022 г.

Выявлено ингибирующее действие хитозана с молекулярной массой 28 кДа, степенью деацетилирования 94% и его кватернизированного производного со степенью замещения 60% на бактерии разных систематических групп. Показано, что бактерии, обладающие разными поверхностными характеристиками клеточной стенки и сродством к красителям, различаются по степени чувствительности к хитозану. Между антибактериальной активностью кватернизированного хитозана и поверхностными характеристиками клеточной стенки выявлены корреляции, зависящие от степени гидрофобности и величины суммарного отрицательного заряда бактерий.

**Ключевые слова:** антибактериальная активность, гидрофобность, деацетилированный хитозан, кватернизированный хитозан

**DOI:** 10.31857/S0026365622600754, **EDN:** AVQTEW

Поиск и разработка новых препаратов для борьбы с бактериями-возбудителями опасных инфекций не теряют своей актуальности на протяжении многих десятилетий. Существует множество веществ природного происхождения, которые можно рассматривать в качестве аналогов традиционным антибиотикам. Одним из таких соединений является хитозан – производное хитина, получаемое путем его деацетилирования (Красавцев и соавт., 2013). Известно, что хитозан и его модифицированные формы могут проявлять антибактериальную, фунгицидную, противовирусную и антитоксическую активности, что делает этот комплекс соединений актуальным и перспективным объектом исследования (Шагдарова и соавт., 2016).

Уровень проявления тех или иных биологически активных свойств хитозана зависит от химической структуры макромолекул этого полисахарида, которые могут сильно различаться по длине глюкозаминовой цепочки (молекулярной массы – ММ), а также по характеру и степени ее деацетилирования (СД) (Хитин и хитозан: получение, свойства и применение, 2002). Основным недо-

статком немодифицированного хитозана является его ограниченная растворимость в водных растворах. Однако наличие в молекуле хитозана реакционноспособных аминогрупп, а также первичных и вторичных гидроксильных групп в звеньях полимерной цепи позволяет проводить синтез производных, получая множество модификаций, которые существенно расширяют спектр его свойств и сферу применения. Одним из перспективных методов химической модификации хитозана является кватернизация – введение в структуру молекулы четвертичной соли аммония. Кватернизированная молекула хитозана приобретает дополнительный положительный заряд и соединение становится водорастворимым при физиологических значениях pH, что существенно облегчает его биомедицинское применение, в том числе и в качестве антибактериального средства (Shagdarova et al., 2019).

Поверхности микробных клеток разнообразны по строению и составу, неоднородны по глубине слоя и изменяются в процессе роста микроорганизмов. Химический состав структурных элементов бактериальных клеток определяет их тинкто-

риальные особенности – способность бактерий воспринимать и удерживать красители. Эти свойства зависят от организации клеточных стенок бактерий и их проницаемости. Красители с основными свойствами, как правило, связываются с отрицательно заряженными структурами клетки – клеточной стенкой и нуклеоидом. Кислые красители сорбируются на положительно заряженных молекулах, а при проникновении в клетку окрашивают цитоплазму (Зайцева и соавт., 2015). В процесс адсорбции веществ на поверхности бактериальных клеток вовлечены различные по природе типы взаимодействий, среди которых преобладают электростатические и силы Ван-дер-Ваальса (Юсупова и соавт., 2013). Эти взаимодействия намного слабее ковалентных связей и не приводят к существенной перестройке электронной структуры взаимодействующих частиц. Отдельно следует отметить наличие водородных связей, которые возникают на малом расстоянии между атомом водорода одной молекулы и электроотрицательным атомом другой, в том случае, если эти атомы несут достаточно большой эффективный заряд (Долгонос, 2020). Отличия в поверхностных структурах клеток бактерий разных групп определяют их различную чувствительность и устойчивость к антимикробным соединениям. Поверхность бактерий играет особую важную роль в их тропности и адгезии к различным веществам (Ерошенко, Коробов, 2017).

Несмотря на то, что хитозан и его производные интенсивно изучаются на протяжении последнего десятилетия, механизмы его действия на бактерии изучены недостаточно.

Целью работы был поиск зависимостей между антибактериальной активностью низкомолекулярного хитозана и его кватернизированной формы и различными поверхностными характеристиками бактериальной клетки.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования явились образцы хитозана, полученного из хитина крабов: хитозан с молекулярной массой 28 кДа, степенью дезацетилирования (СД) 94% и индексом полидисперсности 1.75 (ООО “Биопрогресс”, Россия) и хитозан кватернизированный с молекулярной массой 28 кДа и степенью замещения 60%, полученные по методикам, описанным ранее (Шагдарова и соавт., 2016). Образцы хитозана растворяли в стерильной деионизованной воде (1 мг/мл) с добавлением уксусной кислоты до концентрации 0.1%.

Антибактериальную активность растворов хитозана исследовали на тест-бактериях: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* M-17, *Enterococcus faecalis* NCIMB 13280, *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup> 155, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948, *Staphylococ-*

*cus epidermidis* ATCC 29887. Бактерии выращивали до поздней логарифмической фазы на питательной среде Luria-Bertani (LB), содержащей (г/л дистиллированной воды): триптон – 10, дрожжевой экстракт – 5, KCl – 6.4. Культивирование проводили на орбитальном шейкере (160 об./мин) при 37°C в течение 16–18 ч. Готовили суспензии бактерий в свежей питательной среде LB, содержащие 10<sup>6</sup> колониеобразующих единиц в 1 мл среды (КОЕ/мл).

Для работы использовали растворы красителей: основного и кислого фуксинов, кристаллического фиолетового, конго красного. Стоковые 1% растворы готовили по стандартной методике (Теплер и соавт., 1972), а затем разводили в 500 раз в буфере (pH 7.1) следующего состава (г/л): K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 3H<sub>2</sub>O – 22.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 7.26, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 1.8, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – 0.2 (Rosenberg, 1984).

Антибактериальную активность растворов хитозана определяли методом двукратных серийных разведений в стерильных полистироловых планшетах (“Медполимер”, Россия). В качестве инокулума использовали суспензии тестируемых бактерий, содержащие 10<sup>6</sup> КОЕ/мл. Планшеты инкубировали в термостате при оптимальной для каждого вида бактерий температуре в течение 18–20 ч. За минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) принимали минимальную концентрацию хитозана, при которой не наблюдалось заметного невооруженным глазом роста тест-бактерий.

Для определения минимальной бактерицидной концентрации (МБК) хитозана из лунок, в которых не наблюдалось роста бактерий, удаляли содержимое, и вносили в них по 100 мкл свежей питательной среды LB. Планшеты вновь помещали в термостат с оптимальной для роста температурой и инкубировали не менее 48 ч. Бактерии оставшиеся живыми, после удаления антибактериального агента, возобновляли свой рост. Концентрация раствора хитозана, при удалении которого рост бактерий в свежей среде не возобновлялся, принималась за МБК.

Для оценки уровня гидрофобности бактерий, их клетки дважды промывали и ресуспендировали в указанном выше буфере до оптической плотности (ОП<sub>600</sub>) 0.2–0.4 (спектрофотометр PD-303; “Arel”, Япония). Гидрофобность бактерий определяли по их средству к растворителю *n*-гексадекану (“Вектон”, Санкт-Петербург), используя МАТН-метод (Microbial Adhesion to Hydrocarbons) (Rosenberg, 1984). Для этого в стеклянные обезжиренные пробирки вносили 1 мл бактериальной суспензии в буфере и наслаивали 200 мкл *n*-гексадекана. Содержимое пробирок интенсивно встряхивали с помощью вихревого встряхивателя Vortex FS 16 (“BioSan”, Латвия) в течение 2 мин. После 20 мин отстаивания смеси измеряли оптическую плотность водной фазы при 600 нм (PD-

**Таблица 1.** МИК и МБК хитозана и кватернизированного хитозана в отношении тест-бактерий, мкг/мл

Бактерии	Хитозан		Хитозан кватернизированный	
	МИК	МБК	МИК	МБК
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	125	>500	31	31
<i>Ent. faecalis</i> NCIMB 13280	250	500	64	64
<i>E. coli</i> M-17	31	250	500	>500
<i>P. fluorescens</i> ATCC 948	31	250	500	>500
<i>M. smegmatis</i> mc <sup>2</sup> 155	31	64	4	8
<i>S. epidermidis</i> ATCC 29887	31	31	31	64

303; “Arel”, Япония). Процент гидрофобности определяли, умножая на 100 разницу между оптической плотностью исходной суспензии и таковой после смешивания с углеводородом и деля на оптическую плотность исходной суспензии.

Для определения интенсивности связывания красителей с бактериями использовали бактериальные суспензии с  $ОП_{600} = 1.2-1.3$ . По 0.5 мл суспензии каждого вида бактерий в 5 повторах вносили в пробирки для центрифугирования. Клетки осаждали при 12000 об./мин в течение 3 мин (Microspin 12; “BioSan”, Латвия). Осадок клеток ресуспендировали в 1 мл красителя, разбивали на вихревом встряхивателе и продолжали перемешивать с красителем в течение 15 мин, а затем вновь осаждали на центрифуге. По 100 мкл надосадочной жидкости переносили в 96-луночные планшеты. Оптическую плотность исходных растворов красителей и растворов, полученных после сорбции красителей на клетках, измеряли на планшетном спектрофотометре Benchmark Plus (“BioRad”, США). Оптическую плотность растворов фуксина определяли при длине волны ( $\lambda$ ) 545 нм, конго красного – при  $\lambda = 490$  нм, кристаллического фиолетового – при  $\lambda = 585$  нм. Полученные значения оптической плотности растворов в каждой пробе усредняли, рассчитывали среднеквадратичное отклонение и доверительный интервал (при  $\alpha = 0.05$ ). По разнице оптической плотности исходных растворов красителей и плотности растворов после взаимодействия с клетками рассчитывали процент связывания красителя с бактериями.

Все эксперименты были проведены не менее чем в 3-х повторностях. Статистическую и графическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы MS Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Под тинкториальными свойствами бактерий, грибов и простейших понимают их способность вступать в реакцию с красителями и окрашиваться определенным образом (Красильников, 1999). Исследованные в настоящей работе бактерии об-

ладали различными тинкториальными свойствами. Так *B. subtilis* ATCC 6633, *S. epidermidis* ATCC 29887, *Ent. faecalis* NCIMB 13280 и *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155 являются грамположительными бактериями, а *E. coli* M-17 и *P. fluorescens* ATCC 948 – грамотрицательными. В то же время, бактерии *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155 обладают кислотоустойчивостью, благодаря наличию в их клеточной стенке миколовых кислот, а бактерии *B. subtilis* ATCC 6633 формируют споры, обладающие особыми поверхностными характеристиками и отношением к красителям. Таким образом, в работе были использованы представители бактерий, имеющих принципиальные различия в строении клеточных стенок и обладающие разным средством к красителям.

При изучении антибактериальных эффектов двух образцов хитозана было установлено, что бактерии разных видов обладают неодинаковой чувствительностью к исследуемым соединениям. Так, наименьшие значения МИК и МБК хитозана были выявлены для бактерий *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155 и *S. epidermidis* ATCC 29887. Высокая чувствительность (низкие значения МИК) к хитозану была обнаружена у грамотрицательных бактерий *E. coli* M-17 и *P. fluorescens* ATCC 948, однако бактерицидные концентрации были в 8 раз выше, чем МИК. Кватернизированный хитозан практически не проявлял ингибирующей активности в отношении грамотрицательных бактерий (табл. 1).

Исследование антибактериальной активности хитозана и его кватернизированной формы показали существенные различия в характере их действия на тестируемые бактерии. Антибактериальная активность кватернизированной модификации оказалась несколько выше, чем у исходного хитозана. Низкие концентрации кватернизированного хитозана оказывали подавляющее и бактерицидное действие на исследованные грамположительные бактерии: *B. subtilis*, *Ent. faecalis*, *M. smegmatis*, *S. epidermidis*. Причем наиболее выраженный антибактериальный эффект был отмечен в отношении *M. smegmatis*. Однако в отношении грамотрицательных бактерий кватернизированный хитозан обладал наиболее слабым ингибирующим дей-

**Таблица 2.** Гидрофобность бактерий по МАНН-тесту с *n*-гексадеканом

Бактерии	Гидрофобность, %
<i>M. smegmatis</i> mc <sup>2</sup> 155	84.8 ± 6.34
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	64.0 ± 3.97
<i>Ent. faecalis</i> NCIMB 13280	63.2 ± 7.68
<i>S. epidermidis</i> ATCC 29887	60.6 ± 2.52
<i>E. coli</i> M-17	0
<i>P. fluorescens</i> ATCC 948	0

ствием. Только высокие концентрации данного соединения были способны подавлять рост *E. coli* и *P. fluorescens*, при этом бактерицидного действия не отмечалось совсем.

Что касается исходного хитозана с высокой СД, то малые его концентрации оказывали ингибирующие и бактерицидные эффекты только для *M. smegmatis* и *S. epidermidis*. В отношении *E. coli* и *P. fluorescens* хитозан в малых концентрациях был способен подавлять рост, однако для бактерицидного воздействия на эти бактерии необходимы были гораздо более высокие концентрации хитозана. Наименьшее антибактериальное действие хитозан оказывал на *B. subtilis* и *Ent. faecalis*, которые были высоко чувствительными к хитозану в кватернизированной форме.

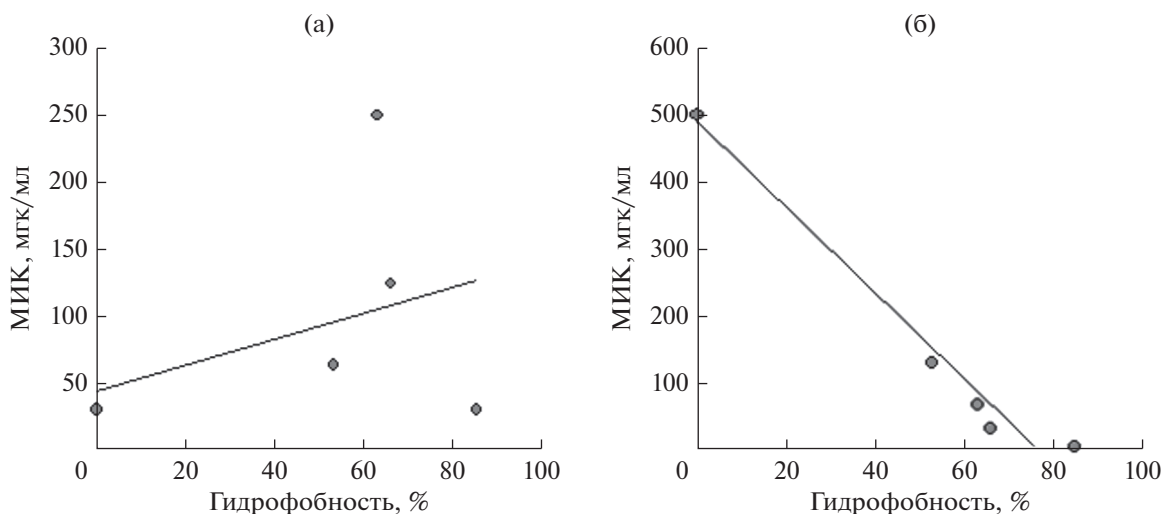
Поверхностные свойства бактериальных клеток определяют их сродство к различным соединениям – антибиотикам, красителям, питательным субстратам. Связывание хитозана с бактериями-мишенями также может зависеть от природы их поверхностей. Одной из важных поверхностных характеристик бактериальной клетки являет-

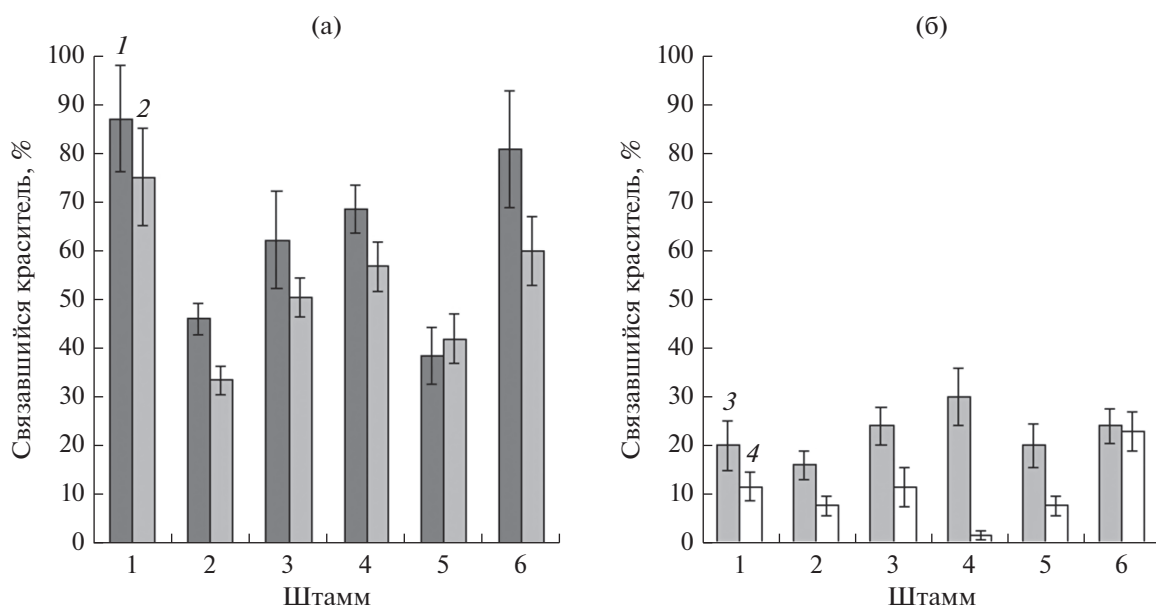
ся степень ее гидрофобности (Панькова и соавт., 2011).

Проведенные исследования показали, что наиболее гидрофобной поверхностью обладали микобактерии, что характерно для их оболочек, содержащих большое количество липидов, составляющих до 60% от массы клеточной стенки (Шульгина и соавт., 2018). Равной степени гидрофобности обладали бактерии *B. subtilis*, *Ent. faecalis* и *S. epidermidis*, свойства поверхности которых в большей степени определяются поверхностно-ассоциированными белками (Vadyvaloo, Otto, 2005). Грамотрицательные бактерии, исследованные в работе, обладали выраженными гидрофильными свойствами (табл. 2).

Анализ корреляционной зависимости между МИК хитозана и степенью гидрофобности тест-бактерий показал для исследуемых соединений разнонаправленные результаты. Для исходного хитозана была выявлена слабая положительная корреляция с коэффициентом  $r = 0.35$ . МИК кватернизированного хитозана, напротив, оказалась в сильной обратной зависимости ( $r = -0.98$ ) от уровня гидрофобности бактерий (рис. 1). Выявленная корреляция и слабое воздействие кватернизированного хитозана на “гидрофильные” грамотрицательные бактерии указывают на то, что его антибактериальные эффекты могут развиваться с образованием гидрофобных связей с поверхностными структурами бактерий.

Известно, что сродство бактерий к красителям во многом зависит от заряда поверхности клеток, а разные типы красителей связываются с отрицательно или положительно заряженными локусами бактериальной клетки. В этой связи были проведены исследования по выявлению закономерности

**Рис. 1.** Корреляционная зависимость МИК хитозана (а) и кватернизированного хитозана (б) от уровня гидрофобности бактерий.



**Рис. 2.** Связывание основных (1 – кристаллический фиолетовый; 2 – основной фуксин) (а) и кислых (3 – кислый фуксин; 4 – конго красный) (б) красителей с клетками бактерий. По оси абсцисс: 1 – *B. subtilis* ATCC 6633; 2 – *E. coli* M-17; 3 – *Ent. faecalis* NCIMB 13280; 4 – *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155; 5 – *P. fluorescens* ATCC 948; 6 – *S. epidermidis* ATCC 29887.

действия хитозана от заряда клеточной поверхности, который определяли путем оценки уровня сорбции различных красителей на бактериях.

Основные красители связываются с отрицательно заряженными структурами микробной клетки – тейхоевыми кислотами стафилококков и энтерококков, карбоксильными группами пептидогликана, липидом II (Юсупова и соавт., 2013; Schneewind, 2014). Сорбция основных красителей особенно эффективно происходила на клетках бактерий *B. subtilis*, *M. smegmatis* и *S. epidermidis*. Эти бактерии связали более 50% красителя. Около 40% основных красителей связывали клетки грамотрицательных бактерий (рис. 2а).

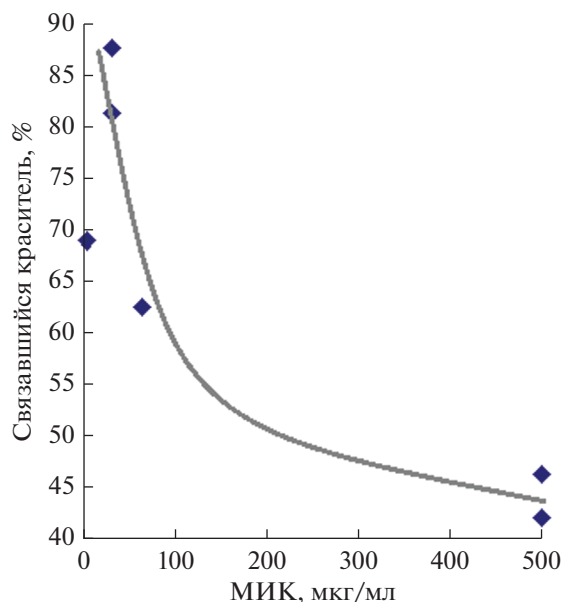
Связывание кислых красителей с бактериальными клетками происходит также путем электростатических взаимодействий, но только с положительно заряженными структурами на поверхности клеток. Таких структур на поверхности бактерий немного, в основном, это лишь некоторые оксифильные белки и бактериальные амилоиды, роль которых особенно важна в адгезии и биопленкообразовании (Ewans et al., 2018). В наших экспериментах активной сорбции кислых красителей на планктонных бактериях не наблюдалось (рис. 2б).

Таким образом, существенные различия сорбции красителей на разных бактериях были выявлены при связывании с клетками кристаллического фиолетового и основного фуксина, сродство которых может зависеть от суммарного отрицательного заряда клеток.

Анализ корреляции между МИК исследуемых соединений и степенью связывания бактериями основных красителей вновь показал разные результаты. Для ингибирующего действия хитозана не было выявлено зависимости от суммарного отрицательного заряда тестируемых бактерий ( $r = 0.2$ ). Однако действие кватернизированной хитозана вновь коррелировало с уровнем отрицательного заряда бактериальных поверхностей ( $r = -0.88$ ) (рис. 3).

Проведенные исследования показали, что хитозан с высокой СД и его кватернизированная модификация различаются по характеру и активности антибактериального действия. Хитозан ингибировал рост тестируемых бактерий при концентрациях, варьирующих в пределах от 31 до 250 мкг/мл. При анализе закономерностей антибактериального действия хитозана не было выявлено зависимостей ни от степени гидрофобности бактериальной поверхности, ни от уровня ее отрицательного заряда. Вероятно, связывание хитозана с атакуемыми бактериями происходит не только по механизмам электростатических и/или гидрофобных взаимодействий, но и посредством специфических сайтов связывания.

Антимикробное действие кватернизированной формы хитозана отличалось и по характеру, и по активности. Ингибирующий рост бактерий эффект модифицированного хитозана был выше, однако он проявлялся лишь в отношении грамположительных бактерий, клеточные поверхности которых обладали выраженной гидрофобностью. Рост же грамотрицательных бактерий, обладаю-



**Рис. 3.** Корреляционная зависимость МИК кватернизированного хитозана от суммарного отрицательного заряда клетки (по связыванию кристаллического фиолетового).

щих гидрофильными оболочками, ингибировался лишь в присутствии высокой концентрации хитозана (500 мкг/мл), а его МБК для этих бактерий не была выявлена.

Указанные наблюдения и выявленная высокая корреляционная зависимость между антибактериальной активностью и степенью гидрофобности поверхности тестируемых бактерий указывают на то, что гидрофобные неполярные взаимодействия играют важную роль в связывании молекул модифицированного хитозана с клеткой-мишенью. Однако полярные электростатические взаимодействия, судя по всему, также вносят свой вклад в биологическую активность этого соединения. Показанная корреляция между степенью антибактериального эффекта и уровнем отрицательного заряда бактериальной поверхности хорошо согласуется с тем фактом, что кватернизация значительно повышает уровень положительного заряда макромолекулы хитозана (Shagdarova et al., 2019).

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: государственные задания “Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды”, регистрационный номер НИОКТР АААА-А19-119112290009-1 и “Получение и изучение физиологически активных соединений, биополимеров, их производных и композитов медицинского и сельскохозяйственного назна-

чения”, регистрационный номер НИОКТР 122041100009-4.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Долгоносоев А.М.* Модель межмолекулярного взаимодействия общего типа между молекулой и жидкой фазой, основанная на теории обобщенных зарядов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2020. Т. 20. № 3. С. 343–361.
- Ерошенко Д.В., Коробов В.П.* Адгезия стафилококков: первый шаг к образованию биопленок // Успехи современной биологии. 2017. Т. 137. № 1. С. 100–112.
- Зайцева Е.А., Шаркова В.А., Дуго Р.Н., Воропаева Н.М., Бронников Ю.Н.* Морфологические и тинкториальные свойства бактерий. Владивосток: Медицина ДВ, 2015. 81 с.
- Красавцев В.Е., Куприна Е.Э., Маслова Г.В., Албулов А.И.* Хитин и хитозан. Сырьевые источники, основные методы переработки // Хитозан / Под ред. Скрябина К.Г., Михайлова С.Н., Варламова В.П. М.: Центр “Биоинженерия”, 2013. С. 18–48.
- Красильников А.П., Романовская Т.Р.* Микробиологический словарь-справочник. 2-е изд. Мн.: “Асар”, 1999. 400 с.
- Панькова Н.В., Полодова Т.В., Лемкина Л.М., Коробов В.П.* Гидрофобные и донорно-акцепторные свойства поверхности клеток стафилококков, чувствительных и устойчивых к варнерину // Микробиология. 2011. Т. 80. С. 568–570.
- Pan'kova N.V., Polyudova T.V., Lemkina L.M., Korobov V.P.* Hydrophobic and donor-acceptor properties of the surface of warnerin-sensitive or resistant staphylococcus cells // Microbiology (Moscow). 2011. V. 80. P. 573–575.
- Теплер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И.* Практикум по микробиологии. М.: “Колос”, 1972. 199 с.
- Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / Под ред. Скрябина К.Г., Вихоревой Г.А. Варламова В.П. М.: Наука, 2002. 368 с.
- Шагдарова Б.Ц., Ильина А.В., Варламов В.П.* Антибактериальная активность алкилированных и ацилированных производных низкомолекулярного хитозана // Прикл. биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. С. 237–241.
- Shagdarova B.T., P'ina A.V., Varlamov V.P.* Antibacterial activity of alkylated and acylated derivatives of low-molecular weight chitosan // Appl. Biochem. Microbiol. 2016. V. 52. P. 222–225.
- Шульгина М.В., Нарвская О.В., Мокроусов И.В.* Патогенные и условно-патогенные микобактерии. М.: ООО “НЬЮ ТЕРРА”, 2018. 104 с.

Юсупова Р.И., Курмаева А.И., Потанова М.В., Кулагина Е.М., Барабанов В.П. Суспензия клеток микроорганизмов как коллоидная система. Часть 2. Поверхностный заряд и электрокинетические свойства дрожжевых и бактериальных суспензий // Вестник Казанского технологического университета. 2013. Т. 16. № 4. С. 189–191.

Evans M.L., Gichana E., Zhou Y., Chapman M.R. Bacterial amyloids // *Methods Mol. Biol.* 2018. V. 1779. P. 267–288.

Rosenberg M. Bacterial adherence to hydrocarbons: a useful technique for studying cell surface hydrophobicity // *FEMS Microbiol. Lett.* 1984. V. 22. P. 289–295.

Schneewind O., Missiakas D. Lipoteichoic acids, phosphate-containing polymers in the envelope of gram-positive bacteria // *J. Bacteriol.* 2014. V. 196. P. 1133–1142.

Shagdarova B., Lunkov A., Il'ina A., Varlamov V. Investigation of the properties of N-[(2-hydroxy-3-trimethylammonium) propyl] chloride chitosan derivatives // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. V. 124. P. 994–1001.

Vadyvaloo V., Otto M. Molecular genetics of *Staphylococcus epidermidis* biofilms on indwelling medical devices // *Int. J. Artif.* 2005. V. 28. P. 1069–1078.

## Inhibitory Action of Low-Molecular Chitosan on Growth of Bacteria with Different Tinctorial Properties

V. P. Korobov<sup>1</sup>, B. Ts. Shagdarova<sup>2</sup>, V. P. Varlamov<sup>2, 3</sup>, A. L. Esaev<sup>1</sup>, and T. V. Polyudova<sup>4, \*</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, 614081 Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Bioengineering, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

<sup>3</sup>*Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*

<sup>4</sup>*Perm State Agro-Technological University, Perm, 614990 Russia*

\**e-mail: polyudova@iegm.ru*

Received November 11, 2022; revised November 22, 2022; accepted November 23, 2022

**Abstract**—Inhibitory effect of chitosan (molecular mass 28 kDa, deacetylation 94%) and of its quaternized derivative with 60% substitution on bacteria of various taxonomic groups was investigated. Bacteria differing in the cell wall surface characteristics and affinity to dyes were found to differ in their sensitivity to chitosan. Correlation dependencies between antibacterial activity of quaternized chitosan and the surface characteristics of bacterial cell walls were revealed.

**Keywords:** antibacterial activity, hydrophobicity, deacetylated chitosan, quaternized chitosan