

Received: 26.03.2020
Accepted: 19.10.2020
Published: 11.12.2020

Mikroorganizmy a kationowe surfaktanty*

Microorganisms and cationic surfactants

Natalia Kula, Edyta Mazurkiewicz, Ewa Obłąk

Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski

*Praca jest finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki z projektu badawczego Opus 16 nr 2018/31/B/NZ9/03878.

Streszczenie:

Czwartorzędowe sole amoniowe (CSA) jako kationowe surfaktanty o budowie amfifilowej wykazują aktywność bójczą wobec niepatogennych i patogennych mikroorganizmów (bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych, grzybów, a także wirusów lipofilnych), występujących w postaci planktonicznej lub tworzących biofilmy. Mogą również opłaszcząć powierzchnię różnych materiałów (szkło, metal, silikon, poliester), z których są wykonywane wyroby medyczne, takie jak: cewniki, implanty, zastawki serca, endoprotezy, a to umożliwia hamowanie adhezji drobnoustrojów do tych powierzchni. Surfaktanty te w swojej strukturze chemicznej zawierają labilne wiązania, np. estrowe, amidowe, które umożliwiają biodegradację związków. Dzięki temu są zaliczane do „zielonej chemii”. Ich biologiczna aktywność zależy od długości łańcucha hydrofobowego i struktury główki hydrofilowej związku. CSA wykazują powinowactwo do błony komórkowej, oddziałując z jej lipidami i białkami, co może doprowadzić do jej dezintegracji. Są zdolne do hamowania aktywności H⁺-ATP-azy błony komórkowej, enzymu odpowiedzialnego za jej gradient elektrochemiczny oraz transport substancji odżywczych do komórki, np. aminokwasów. Związki te mogą wpływać na skład lipidowy (ilościowy i jakościowy) błony komórkowej mikroorganizmów. Są również inhibitorami procesów oddechowych i mogą indukować powstawanie reaktywnych form tlenu. Surfaktanty te w środowisku wodnym są zdolne do tworzenia miceli i liposomów. Znajdują szerokie zastosowanie w medycynie (jako dezynfektanty, nośniki DNA w terapii genowej), w przemyśle i ochronie środowiska (jako biocydy, konserwanty) oraz w rolnictwie (jako fungicydy). Szerokie stosowanie CSA w wielu dziedzinach powoduje narastanie oporności wśród drobnoustrojów na te związki. Częstym mechanizmem generującym zmniejszoną wrażliwość na CSA jest występowanie pomp efflux.

Słowa kluczowe:

czwartorzędowe sole amoniowe (CSA), kationowe surfaktanty, liposomy, pompy efflux

Summary:

Quaternary ammonium salts (QAS) as cationic surfactants with an amphiphilic structure show biocidal activity against non-pathogenic and pathogenic microorganisms (Gram-positive, Gram-negative bacteria, fungi, as well as lipophilic viruses) occurring in planktonic form or forming biofilms. They can also coat the surface of various materials (glass, metal, silicone, polyester) from which medical devices are made, such as: catheters, implants, heart valves, endoprostheses, and this allows inhibiting the adhesion of microorganisms to these surfaces. In their chemical structure, these surfactants contain labile bonds, e.g. ester or amide bonds, which enable the biodegradation of the compounds. Thanks to this, they are classified as “green chemistry”. Their biological activity depends on the length of the hydrophobic chain and the structure of the hydrophilic head of the compound. QAS have an affinity for the cell membrane by interacting with its lipids and proteins, which can lead to its disintegration. They have the ability to inhibit the activity of H⁺-ATPase of the cell membrane, the enzyme responsible for its electrochemical gradient and the transport of nutrients to the cell, e.g. amino acids. These compounds can influence the lipid composition (quantitative and qualitative) of the cell membrane of microorganisms. They are also inhibitors of respiratory processes and can induce the formation of reactive oxygen species. These surfactants are

Keywords:	capable of forming micelles and liposomes in an aqueous environment. They are widely used in medicine (as disinfectants, DNA carriers in gene therapy), in industry and environmental protection (as biocides, preservatives) and in agriculture (as fungicides). The widespread use of QAS in many fields causes the growing resistance of microorganisms to these compounds. A common mechanism that generates reduced susceptibility to QAS is the presence of efflux pumps. quaternary ammonium salts (QAS), cationic surfactants, liposomes, efflux pumps
GICID	01.3001.0014.5776
DOI:	10.5604/01.3001.0014.5776
Word count:	8 127
Tables:	1
Figures:	–
References:	66

Adres autorki: prof. dr hab. Ewa Obłąk, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski, ul. S. Przybyszewskiego 63/77, 51-148 Wrocław; e-mail: ewa.oblak@uwr.edu.pl

Wykaz skrótów: **ABC** – białka transportowe zawierające kasetę wiążącą ATP (ATP – binding cassette), **CSA** – czwartorzędowe sole amoniowe (QAS – quaternary ammonium salts), **MATE** – multidrug and toxic compounds extrusion, **MFS** – major facilitator superfamily, **PG** – peptydoglikan, **RND** – resistance nodulation cell division, **SMR** – small multidrug resistance.

WSTĘP

Czwartorzędowe sole amoniowe (CSA) występują w przyrodzie, są wytwarzane przez mikroorganizmy w celu lepszego przystosowania się do zmiennych warunków środowiska, np. symbiont brodawek korzeniowych, *Rhizobium meliloti* wytwarza glicynobetainę. Jest ona zużywana jako substancja pokarmowa przy niskiej osmolarności lub pełni funkcje ochronne, podczas stresu osmotycznego [44]. Takie substancje wytwarzane przez drobnoustroje nazwano biosurfaktantami.

Surfaktanty można również otrzymać w wyniku syntezy chemicznej. Czwartorzędowe sole amoniowe mają różną budowę, od której zależy ich biologiczna aktywność. Wiele z nich ma właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Dzięki temu związki te znajdują zastosowanie w medycynie (dezynfektanty, nośniki genów i leków), przemyśle i ochronie środowiska (detergenty, biocydy) oraz rolnictwie (fungicydy).

Ze względu na narastającą oporność drobnoustrojów na te związki, niezbędne jest modyfikowanie obecnych i poszukiwanie nowych struktur chemicznych CSA, skutecznych wobec opornych mikroorganizmów.

STRUKTURA CHEMICZNA CSA

Czwartorzędowe sole amoniowe należą do kationowych związków powierzchniowo czynnych [6, 29, 64]. Związki te, zwane również surfaktantami, mają wiele charakterystycznych właściwości, takich jak dobre pienienie, niewielka toksyczność, zachowanie optymalnej aktywności w warunkach ekstremalnych (pH, temperatura, zasolenie) oraz zdolność do szybkiej biodegradacji [56]. Surfaktanty charakteryzują się amfifilową budową. Zawierają dwie grupy:

nierozpuszczalną w wodzie hydrofobową grupę alkilową (niepolarną) oraz mającą powinowactwo do wody grupę hydrofilową (polarną), zawierającą naładowany dodatnio centralny atom azotu, którego charakter kationowy jest niezmienny przy wahaniami pH (ryc. 1). Grupy te zapewniają właściwości chemiczne i fizyczne czwartorzędowym solom amoniowym. Związki benzylodimetylowe, alkilotrimetylowe oraz dialkilodimetylowe są najczęściej stosowanymi CSA [59].

HYDROFOBOWY OGON



HYDROFILOWA GŁÓWKA

Ryc. 1. Budowa cząsteczki związku powierzchniowo czynnego

W związku z rozwojem badań i zastosowań soli, obecnie wyróżnia się siedem generacji czwartorzędowych soli amoniowych [14, 20]:

- pierwsza: chlorki benzalkoniowe, mają najniższą aktywność biobójczą, jak również najmniejszą toksyczność. Stosowane są jako konserwanty.
- druga: chlorki benzalkoniowe z podstawnikami, którymi mogą być pierścienie aromatyczne zawierające atom chloru, grupy metylowe bądź etylowe (np. chlorek alkilodimetylobenzyloamoniowy). Charakteryzują się większą aktywnością biobójczą niż CSA generacji pierwszej.
- trzecia: powstają w wyniku zmieszania CSA pierwszej i drugiej generacji lub w wyniku zmieszania CSA o pojedynczych łańcuchach z polimerycznymi CSA (np. poliheksanid). Związki takie mają jeszcze większy potencjał biójczy przy stosunkowo niskiej toksyczności.

- czwarta: należą tutaj podwójnołańcuchowe CSA (np. chlorek didecyloдимetylo amoniowy). Charakteryzują się wysokim potencjałem bakteriobójczym, zmniejszonym pienieniem się, jak również dużą aktywnością nawet w obecności twardej wody i protein.
- piąta: powstają w wyniku zmieszania CSA czwartej generacji i CSA generacji drugiej. Wykazują wysoki potencjał biobójczy i aktywność w różnorodnych warunkach. Są również stosunkowo mało toksyczne.
- szósta: przedstawicielami są polimery czwartorzędowych chlorków amoniowych. Wykazują duży potencjał bakteriobójczy; niewielką hemo- i cytotoksyczność. Stosowane są w implantach i cementach stomatologicznych, jak również w opakowaniach żywności.
- siódma: podwójne czwartorzędowe sole amoniowe z polimerycznym czwartorzędowym chlorkiem amonu.

WŁAŚCIWOŚCI CSA

Charakterystyczne właściwości CSA to: rozpuszczalność ich w wodzie, która zależy od rodzaju podstawników alkilowych i zmniejsza się wraz z wydłużaniem łańcucha alkilowego. Surfaktanty zawierające długie podstawniki alkilowe charakteryzują się większą sorpcją na powierzchniach organicznych [59].

Niewielkie stężenia CSA oddziałują na określone domeny białek błonowych, natomiast ich duże stężenia powodują denaturację białka lub mogą zaburzać pierwotne ułożenie białek w błonie, przez oddzielanie cząsteczki białka i włączenie do miceli detergentów. Ponadto CSA są zdolne do zmiany symetrii ułożenia lipidów i płynności dwuwarstwy fosfolipidowej, a także mogą powodować zaburzenia oddziaływań elektrostatycznych i hydrofobowych między białkami błonowymi i lipidami. CSA mogą również w sposób bezpośredni lub pośredni prowadzić do spadku aktywności enzymów uczestniczących w transporcie przez warstwę lipidową błony (H⁺-ATP-azy) [43, 44].

Związki powierzchniowo czynne wykazują aktywność przez solubilizację (interakcję miceli w rozpuszczalniku i powstanie klarownego roztworu), zwijanie (obniżanie napięcia międzyfazowego roztwór/tkanina lub roztwór/olej) lub emulgację (obniżanie napięcia międzyfazowego w roztworach olejowych). Surfaktanty usuwają zabrudzenia przez obniżanie napięcia powierzchniowego substancji, w której się rozpuszczają. Umożliwia to wychwytywanie fazy olejowej przez związek powierzchniowo czynny. Niższe napięcie powierzchniowe umożliwia utrzymanie oleistych zabrudzeń lub tłuszczu w wodzie, tworząc emulsję [40].

Klasyfikacja CSA ze względu na ich właściwości

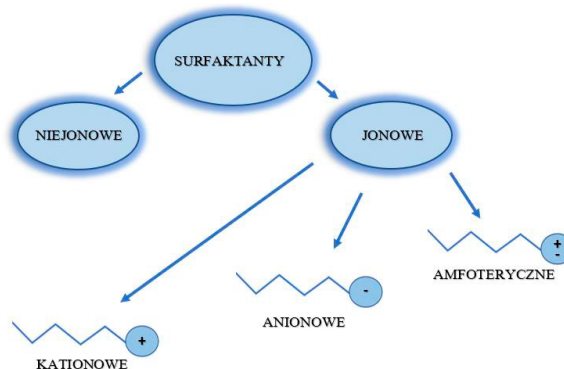
Najbardziej znanym sposobem klasyfikacji związków powierzchniowo czynnych jest podział uwzględniający zdolność cząsteczki polarnej do dysocjacji w roztworach wodnych. Ta cecha pozwala podzielić surfaktanty na dwie grupy (ryc. 2) [6, 64]:

- niejonowe – nie dysocjują na jony w roztworach

wodnych, jednak wiele związków zawierających tlen może tworzyć cząsteczki hydrofilowe. Cecha ta przez wiązanie wodorowe z wodą umożliwia niejonowym surfaktantom rozpuszczalność. Znajdują zastosowanie w: przemyśle spożywczym, tekstylnym, papierniczym, lekach, pestycydach, tworzywach sztucznych i barwnikach.

- jonowe:
 - kationowe – grupa polarna dysocjuje w roztworach wodnych na kationy, charakteryzują się dobrymi właściwościami bakteriobójczymi, antystatycznymi i antykorozyjnymi,
 - anionowe – grupa polarna dysocjuje na aniony w roztworach wodnych. Jest to najbardziej zróżnicowana grupa surfaktantów. Anionowe związki powierzchniowo czynne obejmują detergenty, środki pieniające, emulgatory oraz środki dyspergujące i antystatyczne,
 - amfoteryczne – grupa hydrofilowa, w zależności od pH dysocjuje na kationy lub aniony.

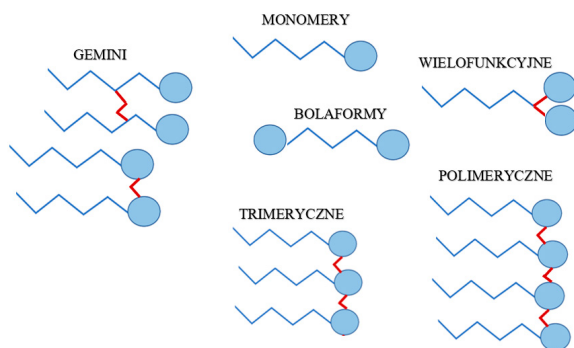
Surfaktanty amfoteryczne charakteryzuje mała toksyczność i dobra biodegradowalność. Stosowane są w przemyśle jako środki zmiękczające tkaniny czy środki antystatyczne, a dzięki łagodnemu działaniu na skórę znajdują również zastosowanie w higienie osobistej – kosmetyki, szampony, czy żele pod prysznic.



Ryc. 2. Podział związków powierzchniowo czynnych ze względu na właściwości grupy polarnej

Surfaktanty można również podzielić ze względu na strukturę chemiczną cząsteczki (ryc. 3): monomery (zawierające pojedynczą część hydrofilową i hydrofobową); gemini (charakteryzujące się dwoma cząsteczkami polarnymi, połączonymi łącznikiem między głowami lub ogonami z dwoma cząsteczkami niepolarnymi); związki trimeryczne i polimeryczne (zawierające wiele części hydrofilowych i hydrofobowych); związki wielofunkcyjne (mające dwie głowy połączone łącznikami z pojedynczym łańcuchem alkilowym); formy bolaformowe (mające dwie skrajnie położone hydrofilowe głowy połączone łańcuchem hydrofobowym) [47].

Surfaktanty można także podzielić ze względu na ich zastosowanie. Klasyfikacja obejmuje: środki dyspergujące, środki zwilżające, środki pieniające, środki antyzbrylające, emulgatory, solubilizatory i inne [41].



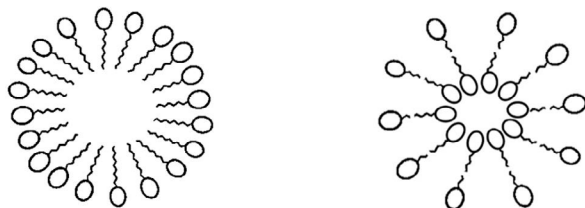
Ryc. 3. Podział związków powierzchniowo czynnych ze względu na strukturę chemiczną cząsteczki

Micelle surfaktantów i możliwości ich wykorzystania

Czwartorzędowe sole amoniowe, jako surfaktanty, mogą asocjować pojedyncze cząstki w roztworach wodnych, czego przykładem jest tworzenie miceli lub liposomów (ryc. 4).

Micelizacja następuje, gdy stężenie surfaktantu osiągnie próg, zwany krytycznym stężeniem micelizacji (critical micelle concentration, CMC). Zjawisko to warunkuje wykorzystanie czwartorzędowych soli amoniowych jako surfaktantów [53]. Micelle stosuje się w przemyśle kosmetycznym, detergentach, farbach oraz w przemyśle naftowym do odzysku petrochemicznego [2].

Liposomy, inaczej pęcherzyki Banghama, to składające się z podwójnej warstwy surfaktantu zamknięte, kuliste struktury błonowe, które stosuje się w przemyśle biotechnologicznym i farmaceutycznym oraz w medycynie. Zastosowanie liposomów umożliwia stabilizację i ochronę umieszczonych w nich substancji. Ponadto liposomy, jako nośniki leków, charakteryzują się biokompatybilnością i niewielką toksycznością, dzięki czemu są szeroko stosowane w przemyśle medycznym. Liposomy mogą przenosić wodę, rozpuszczalne w lipidach leki, mikro- i makromolekuły, gwarantując ukierunkowane dostarczenie oraz długotrwałe uwalnianie leku, zapewniają ochronę przed utlenianiem, a także mogą być aplikowane do organizmu wieloma drogami. Substancja aktywna może być uwalniana z liposomu przez fagocytozę lub włączenie do błony komórkowej miejsca docelowego [28].



Ryc. 4. Model tworzonych przez CSA: A – miceli; B - liposomu

Kationowe związki powierzchniowo czynne mogą być wykorzystywane do transfekcji komórek eukariotycznych oraz jako nośniki genów i leków [46, 47]. Ważne jest, aby związki, które mają być wykorzystane jako nośniki leków, spełniały wymagania takie jak: brak toksyczności wobec komórek organizmu, do którego są wprowadzane, brak immunogenności, nie kumulowanie się w organizmie podczas długotrwałego podawania, biokompatybilność oraz zdolność do tworzenia lipopleksów z genami lub lekami [16].

Dzięki swojej budowie surfaktantów, oparte na nich nośniki, mogą dostarczać DNA o niemal dowolnej wielkości, dzięki temu mają znaczną przewagę nad wektorami wirusowymi. Ponadto, w przeciwieństwie do wektorów wirusowych, syntetyczne nośniki są łatwiejsze w przygotowaniu, nie są immunogenne, nie stwarzają ryzyka mutagenyzy oraz cechują się wysokim stopniem biodegradacji. Zdolność do oddziaływania małych skupisk cząsteczek czwartorzędowych soli amoniowych z DNA sprawia, że związki te mogą kompleksować DNA w znacznie niższych stężeniach, niż tradycyjne związki amfilowe. Za pośrednictwem oddziaływań hydrofobowych i przyciągania elektrostatycznego dochodzi do wiązania cząsteczki surfaktantu z DNA. Największą efektywność wykazują związki agregujące w jak najniższych stężeniach. Ponadto formy gemini, znacznie lepiej kompleksują DNA niż monomeryczne. Kompleksy surfaktant-DNA mogą tworzyć kilka rodzajów struktur, zależnych od budowy związku czynnego powierzchniowo. Surfaktanty gemini, które w budowie amin mają czwartorzędowe sole amoniowe, tworzą odwrócone heksagonalne struktury, w których cylindryczne micelle otaczają DNA lub formują kompleksy o strukturze lamelarnej, zamykając cząsteczkę kwasu nukleinowego wewnątrz dwuwarstwy utworzonej przez cząsteczki związku [52].

Surfaktanty można poddać modyfikacji, a tworząc lipopleksy, będą wydajniej kondensowały leki i kwasy nukleinowe. Dodanie do powierzchni liposomów bądź miceli krótkich sekwencji sygnałowych lub przeciwciał, umożliwia ukierunkowanie lipopleksu do komórek lub organelli docelowych [19]. Możliwe jest także dodanie łańcucha polietyloglikolu (PEG), który chroni kompleks przed przedwczesnym rozpadem w organizmie gospodarza oraz zmniejsza toksyczność surfaktantu [11]. Zwiększenie długości łańcuchów węglowodorowych w surfaktantach gemini, mających w części hydrofilowej polimery lizyny oraz modyfikacje grupy łącznikowej związków, wpływa na polepszenie transfekcji. Dodanie do główki surfaktantu związku, który wykazywałby powinowactwo do wybranej grupy receptorów znajdujących się na powierzchni komórek docelowych, umożliwiłoby stworzenie nośników działających w sposób swoisty. Skuteczność transfekcji może być także zwiększona przez dodanie peptydów lub lipidów pomocniczych do klasycznych związków amfilowych, np. dodatek L-dioleilofosfatydyloetanolaminy (DOPE) ułatwia zmianę konformacji błon endosomu, a także jego destabilizację [52].

W organizmie człowieka lipopleksy losowo lub w sposób ukierunkowany łączą się z błonami komórkowymi

otaczających je komórek. Następnie przez endocytozę wnikają do wnętrza komórki, tworząc endosom. Lipopleks obecny w endosomie, podczas transportu wewnątrzkomórkowego, zmienia postać z fazy lamelarniej w odwróconą heksagonalną. W wyniku niskiego pH dochodzi do pęknięcia endosomu i uwolnienia jego zawartości do cytoplazmy. Aby DNA lub białka nie uległy strawieniu przez endonukleazy, konieczny jest szybki transport tych makrocząsteczek w pobliżu jądra komórkowego lub do jego wnętrza przez sekwencję kierującą - NLS (nuclear localization signal) [8].

Kationowe surfaktanty mogą być wykorzystywane w terapiach nowotworowych, jako nośniki leków przeciwnowotworowych, leków kierujących komórki na drogę apoptozy oraz siRNA [62]. Istotną cechą, utworzonych przez kationowe surfaktanty, liposomów i miceli jest ich zdolność do oddziaływania z ujemnie naładowaną powierzchnią komórek. Umożliwia to wykazywanie przez nie selektywnego działania w organizmie człowieka lub zwierzęcia, np. do ujemnie naładowanych komórek naczyniaka śródbłonna [15].

AKTYWNOŚĆ CSA WOBEC MIKROORGANIZMÓW W ZALEŻNOŚCI OD STRUKTURY CHEMICZNEJ ZWIĄZKU

Czwartorzędowe sole amoniowe mają zróżnicowaną aktywność w zależności od długości łańcucha alkilowego, rodzaju pochodnej związku oraz od liczby grup metylenowych w ogonie hydrofobowym cząsteczki [57]. Badania wskazują, że wraz ze wzrostem długości łańcucha alkilowego wzrasta aktywność biologiczna CSA wobec mikroorganizmów [47]. Wynika to z liofilowości czwartorzędowych soli amoniowych. Im dłuższy jest łańcuch alkilowy, tym bardziej lipofilny jest związek, a przez to silniej oddziałuje z błonami komórkowymi mikroorganizmów i umożliwia hamowanie procesów oksydoredukcyjnych w komórce. Ponadto długość łańcucha alkilowego wpływa na zdolność surfaktantów do oddziaływania z powierzchniami hydrofobowymi, ze względu na to, iż są one wówczas skierowane ogonami hydrofobowymi w stronę hydrofobowej powierzchni [47]. Wraz ze wzrostem długości łańcucha alkilowego wzrastają właściwości antyadhezyjne CSA wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych [34]. Długość łańcucha węglowodorowego wpływa także na zdolność surfaktantów do eradykacji biofilmu [26, 63].

Ponadto związki bardziej złożone, takie jak surfaktanty gemini lub wielofunkcyjne, mogą znacznie silniej działać niż liniowe [48]. W niższych temperaturach hydrofobowe ogony czwartorzędowych soli amoniowych, stają się bardziej sztywne i mniej ruchliwe, przez co błona cytoplazmatyczna jest oporna na ich działanie [3].

Mechanizm działania CSA, jako związków powierzchniowo czynnych, może polegać na dezorganizacji struktur powierzchniowych, do których należą błony komórkowe bakterii i grzybów. Surfaktant adsorbuje i penetruje ścianę komórkową mikroorganizmów. Następnie dochodzi do reakcji czynnika ze składnikami błony cytoplazmatycznej (lipidami lub białkami), czego skutkiem jest dezintegracja błony, następnie wyciek drobnocząsteczkowych

składników z wnętrza komórki, degradacja kwasów nukleinowych i białek, a następnie w wyniku działania autolitycznych enzymów – liza komórki [44].

Aktywność przeciwgrzybicza CSA jest spowodowana zdolnością tych związków do wymywania lipidów z błony plazmatycznej bądź rozrywaniem wiązań obecnych między podjednostkami enzymów oligomerycznych, w wyniku czego następuje inhibicja enzymów błonowych i destabilizacja błony komórkowej. Surfaktanty te mogą spowodować także wyciek jonów potasu i lizę protoplastu [44]. Wobec grzybów drożdżopodobnych CSA działają cytotoksycznie, powodując depolaryzację błony mitochondrialnej. Związki te są zdolne do hamowania filamentacji grzybów drożdżopodobnych *Candida albicans*, przez zakłócanie spolarzowanej organizacji szkieletu aktynowego błony mitochondrialnej, co prowadzi do dysfunkcji mitochondriów [63].

Związki powierzchniowo czynne charakteryzują się także zdolnością do redukcji biofilmu wytwarzanego przez mikroorganizmy na wyrobach medycznych. Ich działanie polega na zaburzeniu aktywności metabolicznej, oddechowej, a także na niszczeniu składników egzopolisacharydu (EPS) wytwarzanego przez drobnoustroje tworzące biofilm [50]. Ponadto, surfaktanty, jako związki amfifilowe, nie tylko oddziałują ze strukturami komórkowymi drobnoustrojów, ale także mogą odrywać struktury biofilmu od powierzchni i rozpraszać komórki bakteryjne i grzybicze [49].

Kationowe surfaktanty są zdolne do indukcji stresu oksydacyjnego w komórkach mikroorganizmów, w wyniku czego powstają reaktywne formy tlenu, które powodują oksydację steroli i kwasów tłuszczowych w błonie komórkowej, co może zwiększać jej przepuszczalność [10]. Ponadto, związki te przez wbudowywanie się łańcuchami alkilowymi w błony komórkowe, mogą hamować aktywność H⁺-ATP-azy błony komórkowej odpowiedzialnej za utrzymanie gradientu elektrochemicznego błony i spowodować wypływ np. jonów potasu czy DNA [43, 45].

OPORNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW NA CSA I LEKI

Surfaktanty należące do CSA są obecnie najczęściej stosowanymi dezynfektantami. Ich rozpowszechnienie w środkach dezynfekcyjnych i powierzchniowo czynnych spowodowało wystąpienie oporności wśród drobnoustrojów na te związki. Oporność mikroorganizmów może być naturalna lub nabyta. Subinhibitorowe stężenia związków biobójczych indukują u mikroorganizmów wiele reakcji w odpowiedzi na stres środowiskowy. Należy tutaj zwiększenie stężenia wolnych rodników w odpowiedzi na stres oksydacyjny, co może powodować u bakterii reakcję obronną w postaci ekspresji genów odpowiedzialnych za horyzontalny transfer genów lub mutagenezę [38].

Oporność na CSA, może być u mikroorganizmów wywołana przez zmniejszenie przepuszczalności błony komórkowej na związki. Bakterie mogą w tym celu modyfikować

kwasy tłuszczowe i fosfolipidy. W wyniku wielu zmian powierzchnia komórki może się stać bardziej hydrofobowa. Taka modyfikacja może utrudniać przenikanie CSA do wnętrza komórki [38].

CSA zastosowane wobec bakterii oddziałują na ich ścianę komórkową, powodując wyciek wewnątrzkomórkowych substancji, degradację protein i kwasów nukleinowych. W związku z tym u bakterii mogą również następować zmiany w genach odpowiedzialnych za syntezę peptydoglikanu (PG). Grubość PG i liczba wiązań między komponentami ściany komórkowej, również wpływa na wrażliwość bakterii na CSA [24].

Częstym mechanizmem nabytym bądź naturalnym, wykorzystywanym przez mikroorganizmy, jest umiejętność czynnego usuwania różnych związków z komórki za pomocą pomp efflux. Geny kodujące białka pomp efflux mogą się znajdować na chromosomach, jak również na ruchomych elementach genetycznych, np. plazmidach. Mogą być swoiste dla jednego substratu, a także dla wielu różnych związków, co jest często związane z wielolekoopornością. Geny chromosomalne, kodujące białka pomp efflux, mogą być aktywowane przez indukcję substratową lub mutacje spowodowane stresem środowiskowym. Niektóre z białek podlegają ekspresji na stałym, konstytutywnym poziomie [61]. Nadmierna ekspozycja na substancje przeciwbakteryjne lub przeciwgrzybicze może zmniejszyć wrażliwość nie tylko na daną substancję, ale również na inne związki o podobnej lub odmiennej budowie chemicznej. Takie zjawisko nosi nazwę oporności krzyżowej, a występowało u mikroorganizmów uprzednio traktowanych CSA [23, 36]. Użycie czwartorzędowych soli amoniowych spowodowało nadekspresję genów odpowiedzialnych za występowanie wielolekowych systemów pomp i zmniejszoną wrażliwość na CSA i fluorochinolony. Takie zjawisko zaobserwowano zarówno u bakterii Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich [12].

Na przełomie 2013 i 2014 r. stworzono i udostępniono bazę danych BacMet, która zawiera informacje o oporności mikroorganizmów na substancje aktywne [36]. Są tam informacje m.in. o genie kodującym białko warunkujące oporność, na jakie substancje, u jakich mikroorganizmów i jaki mechanizm ją warunkuje. Zawarte w bazie dane wskazują, iż nadekspresja pomp efflux jest bardzo ważnym mechanizmem i stanowi istotny czynnik w generowaniu oporności u mikroorganizmów. Ten mechanizm oporności jest również szeroko rozpowszechniony dla czwartorzędowych soli amoniowych.

Badania wykazały, że u bakterii coraz częściej stwierdza się korelację między nadekspresją pomp efflux, wirulencją i zdolnością do tworzenia biofilmu [5]. Autorzy publikacji wskazują, że systemy pomp AcrAB-TolC u *Escherichia coli*, MexAB-OprM u *Pseudomonas aeruginosa*, AdeFGH u *Acinetobacter baumannii* i AcrD u *Salmonella enterica* są ważnymi czynnikami ułatwiającymi tworzenie biofilmu u tych gatunków [4, 7]. Mutanty, pozbawione genów warunkujących występowanie systemu AcrAB-TolC miały obniżoną zdolność do wywoływania infekcji u kurczaków [39].

Obecne doniesienia naukowe wskazują na możliwość syntezy związków hamujących czynny wyrzut substancji aktywnych z komórek drobnoustrojów. Związki takie zwane są inhibitorami pomp efflux (EPIs). Dotychczas zsyntetyzowane związki nie są używane w medycynie ze względu na znaczną toksyczność. Należy wspomnieć, że występują również naturalne związki będące inhibitorami pomp efflux. Rezerpina, będąca naturalnym alkaloidem, jest powszechnie używana w badaniach modelowych jako inhibitor pomp NorA u *Staphylococcus aureus*, jednak nie jest stosowana w medycynie ze względu na neurotoksyczne właściwości [22].

Pod względem budowy i funkcji, pompy efflux są klasyfikowane do pięciu rodzin – MFS (Major Facilitator Superfamily), SMR (Small-Multridrug Resistance), ABC (ATP-Binding Cassette), MATE (Multidrug and Toxic Compounds Extrusion) lub RND (Resistance-Nodulation-Cell Division) [61].

Transportery bakterii Gram-dodatnich przeważnie należą do rodziny MFS, która jest liczna i różnorodna. Transport substratu przez pompy należące do rodziny MFS odbywa się na zasadzie uniportu, symportu z jednoczesnym wypływem jonów wodorowych (H⁺) lub sodowych (Na⁺), antyportu z jednoczesnym napływem jonów wodorowych albo antyportu z jednoczesnym napływem substancji rozpuszczonej. Energię niezbędną do aktywnego usuwania związków czerpią z gradientu protonów po obu stronach błony [32].

Powszechnym problemem epidemiologicznym są infekcje wywołane przez *Staphylococcus aureus*. U bakterii zidentyfikowano m.in. pompę NorA należącą do rodziny transporterów MFS. Jej geny są kodowane na chromosomie i ekspresjonowane na stałym poziomie. Wykazuje szerokie spektrum substratowe, a jej nadekspresja zmniejsza wrażliwość na fluorochinolony (ciprofloksacynę, norfloksacynę), biocydy (należą tutaj m.in. czwartorzędowe sole amoniowe) i barwniki (bromek etydyny) [22, 66].

Do transporterów generujących oporność na leki i środki dezynfekcyjne u *S. aureus* zalicza się również transportery należące do rodziny SMR – transportery Smr. Struktura pompy nie została dokładnie poznana. Ze względu na małe rozmiary najprawdopodobniej funkcjonują jako kompleksy oligomeryczne. Źródłem energii do aktywnego usuwania substratów jest siła protonomotoryczna [32]. Należą do transporterów wielolekowych, niemniej jednak generują zmniejszoną wrażliwość na związki chemiczne, w mniejszym stopniu niż transportery należące do rodziny MFS. Do substratów pomp SMR należy m.in. chlorek benzalkoniowy [18].

Transportery należące do rodziny RND są najbardziej rozpowszechnionymi wśród bakterii Gram-ujemnych. Transport substratu jest oparty na antyporcie substrat-proton. Należą do transporterów wielolekowych i wraz z białkami występującymi w peryplazmie i błonie zewnętrznej, tworzą trójskładnikowy kompleks [32]. Najczęściej występującym transporterem RND u bakterii Gram-ujemnych jest

Tabela 1. Rodziny pomp efflux u bakterii Gram-ujemnych i ich zakres substratowy [13]

Rodzina transporterów	Białka transportowe	Substrat
MFS	NorA, NorB, NorC, NorM, MdfA, PmrA, Bmr, Bmr3, Blt, LfrA, Emfa, SmfY, Lde, QacA, QacB, SdrM, QepA, QepA2	Czwartorzędowe sole amoniowe, fluorochinolony, aminoglikozydy, chloramfenikol, erytromycyna, linkozamidy, nowobiocyna, rifampicyna, tetracykliny
MATE	MepA, CdeA, PmpM	Czwartorzędowe sole amoniowe, fluorochinolony, aminoglikozydy
SMR	QacC/D, QacG, QacH, QacJ, QacEA1, SugE, SepA	Czwartorzędowe sole amoniowe, fluorochinolony, aminoglikozydy, chloramfenikol, erytromycyna, tetracykliny

system AcrAB-TolC. Występuje m.in. u *E. coli* i *Salmonella*. Badania wykazały, że traktowanie *E. coli* subinhibitorowym stężeniem chlorku benzalkoniowego, spowodowało indukcję nadekspresji białek systemu AcrAB-TolC i zmniejszoną oporność na związek [7, 39]. Substratem tych systemów transportowych jest również szeroko rozpowszechniony w antyseptyce – triklosan. Ekspozycja *Salmonella* Typhimurium na związki należące do CSA powodowała nadekspresję pomp AcrAB, a także zmniejszoną wrażliwość na chloramfenikol, tetracyklinę, ampicylinę, akryflawinę [33]. Jednak w niektórych badaniach nie wykazano tej korelacji [33]. Ponadto stwierdzono, że u izolatów klinicznych *E. coli* występowała zmniejszona wrażliwość na CSA [33], jak również na antybiotyki (np. ciprofloksacynę). Wyższe wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC) dla tych związków wynikały z nadekspresji genów *tolC*., *marA*, *marOR*, *soxS*, *rob* znajdujących się w obrębie integronu 1 i generujących powstawanie systemów efflux AcrAB-TolC. Badania wskazują na możliwość występowania oporności krzyżowej między CSA, a antybiotykami [13, 14].

Oporność *Bacteroides fragilis* na większość stosowanych w medycynie antybiotyków jest powszechnie udokumentowana na świecie. Badania z 2018 r. wykazały korelację między antybiotkoopornością *B. fragilis*, a nadekspresją białek pomp należących do rodziny RND. Bakteria m.in. dzięki mechanizmom efflux uzyskała oporność na β -laktamy, metronidazole, chinolony oraz tetracykliny [27].

U bakterii Gram-ujemnych występują również transportery należące do rodziny MATE. Obecność tych pomp udokumentowano również u: roślin, ssaków, pierwotniaków, grzybów i bakterii Gram-dodatnich, gdzie pełnią rolę eksporterów dla metabolitów [35, 58]. Transport związków odbywa się z jednoczesnym napływem jonów sodu do komórki mikroorganizmu. Transportery MATE mają szeroki zakres substratowy. Jednym z najczęściej opisywanych transporterów jest NorM u *Vibrio cholerae* oraz u *Neisseria gonorrhoeae*. Warunkuje on zmniejszoną wrażliwość na aminoglikozydy, fluorochinolony, leki przeciwnowotworowe czy barwniki [17, 32, 55]. Badania wykazały, że substratem transportera NorM są również związki należące do CSA [13]. Obecność transporterów należących

do rodziny MATE udokumentowano również u *B. fragilis* i powiązано ze zmniejszoną wrażliwością na chinolony [27]. Przykłady białek transportowych u bakterii Gram-ujemnych przedstawiono w tabeli 1.

Transportery należące do rodziny ABC występują u: bakterii Gram-dodatnich, grzybów i ssaków. Pełnią różnorodne funkcje, w tym warunkują eksport metabolitów i związków toksycznych. Energię do eksportu substancji z komórki uzyskują za pomocą hydrolizy ATP. Mają szeroki zakres substratowy, który obejmuje tetracykliny, fluorochinolony, chloramfenikol, rifampicynę, makrolidy, linkozamidy, aminoglikozydy [32]. Przedstawicielem tej rodziny pomp jest LmrA opisana po raz pierwszy u *Lactococcus lactis*. Jej nadekspresja warunkuje oporność mikroorganizmów na chloramfenikol i antybiotyki MLS (Makrolidy-Linkozamidy-Streptograminy) [32].

ZASTOSOWANIE CSA

Wykorzystanie surfaktantów w medycynie

Czwartorzędowe sole amoniowe dzięki bezbarwności, bezwonności, stabilności termicznej i stosunkowo szerokim zakresie działania są używane jako substancje czynne w środkach dezynfekcyjnych od ponad 20 lat. Związki należące do grupy CSA są również biodegradowalne, z wyjątkiem alkiloamoniowych związków gemini, ponieważ wykazują silny potencjał adhezyjny [12]. Mają właściwości bakteriobójcze, grzybobójcze, a także przeciwwirusowe (wobec wirusów mających otoczkę lipidową). Stosuje się je do dezynfekcji m.in. narzędzi chirurgicznych i sal operacyjnych czy też nieuszkodzonej skóry i błon śluzowych. Przykładami takich związków są: chlorek benzalkoniowy, bromek benzylodecylo-dimetyloamoniowy, alkilodimetylobenzyloamoniowy, laurylopirydyniowy.

Wrażliwość mikroorganizmów na czwartorzędowe sole amoniowe jest zróżnicowana i nie zależy jedynie od ich stężenia, drobnoustroje bowiem wykazują odmienną wrażliwość na związki, co jest wynikiem różnej budowy zarówno związków jak również mikroorganizmów. W niskich stężeniach CSA (0,5-5 mg/l) działają biostatycznie na większość bakterii, prątków, grzybów oraz glonów.

W stężeniach średnich (10–50 mg/l) wykazują właściwości bójcze na bakterie, grzyby, algi czy lipofilowe wirusy. Problemem mogą być przetrwalniki, prątki i priony, wobec których nawet wysokie stężenia CSA mogą być nieskuteczne [37]. Czwartorzędowe sole amoniowe zawierające anion bromu lub chloru mają zwiększone właściwości bakteriobójcze. Stąd najczęściej CSA stosowane w dezynfekcji zawierają te jony [60].

Związki czwartorzędowych soli amoniowych są detergentami i dlatego są używane jako środki powierzchniowo czynne. Znajdują się nie tylko w środkach piorących, ale również w środkach zapobiegających korozji oraz w środkach antyelektrostatycznych [60].

Związki należące do grupy czwartorzędowych soli amoniowych znalazły zastosowanie w medycynie. Stosowane są m.in. w anestezjologii, gdzie wykorzystywana jest ich zdolność do zwiótczenia mięśni szkieletowych. Przykładem takiego związku jest sugammadeks [30], czy D-tubokuraryna, toksyferyna [44]. CSA wykazują właściwości blokujące receptory muskarynowe, a to umożliwia zastosowanie ich jako leków antycholinergicznym. Używane są w leczeniu m.in. nadpotliwości czy ślinotoku (bromek glikopyroniowy) [42].

Są stosowane zarówno w leczeniu nieoperacyjnym, jak i pooperacyjnym oraz w przypadkach poporodowego funkcjonalnego zatrzymania moczu (betanechol) [1].

W ostatnich latach nastąpił wzrost zainteresowania przemysłu farmaceutycznego, cieczami jonowymi. Stosuje się jako rozpuszczalniki w procesie syntezy produktów leczniczych, ze względu na unikatowe właściwości. Nazywane są „zielonymi rozpuszczalnikami”, ponieważ ich użycie jest przyjazne środowisku. Ciecze jonowe mogą być ponadto projektowane, czyli mogą mieć odpowiednio dobrane jony. Istnieje również możliwość „sterowania” ich temperaturą topnienia, gęstością, lepkością, możliwością mieszania z wodą i rozpuszczalnikami organicznymi [51, 54].

Związki należące do grupy CSA działają przeciwwirusowo wobec wirusów otoczkowych. Badania wykazały, że środki dezynfekcyjne zawierające jako główny składnik chlorek didecyldimetyloamoniowy są skuteczne wobec wirusów (AIV, NDV). Wykazano również, że stosowanie chlorku didecyldimetyloamoniowego z innymi dezynfektantami może wzmacniać ich działanie przeciwdrobnoustrojowe, a także zwiększyć zakres działania związku [31]. CSA mają aktywność biologiczną wobec enterowirusów, rotawirusów, norowirusów, wirusa grypy i wirusa zapalenia wątroby typu A [25].

Zastosowanie CSA w ochronie środowiska, rolnictwie i przemyśle

Stosowane są jako środki chroniące drewno, gdzie odpowiadają za zwalczanie grzybów wywołujących pleśń drewna, takich jak *Chaetomium globosum* [9].

Czwartorzędową solą amoniową, która jest powszechnie używana jako fungicyd w Polsce jest difenokonazol. Jest używany w celu zapobiegania infekcjom grzybiczym, wywołanym m.in. przez *Lecanicillium fungicola* [65].

CSA jako kationowe surfaktanty znalazły zastosowanie w przemyśle jako: emulgatory, dezynfektanty, dyspergatory, zagęstniki czy związki antystatyczne. Czwartorzędowe sole amoniowe są wykorzystywane do produkcji kosmetyków, np. preparatów do pielęgnacji włosów. Są stosowane również jako sorbenty w procesach flotacji w górnictwie oraz w przemyśle naftowym, np. do oczyszczania powierzchni morza z produktów naftowych, takich jak: benzyna, olej napędowy czy paliwa do silników odrzutowych. W przemyśle włókienniczym CSA są stosowane do impregnacji tkanin jako środki ułatwiające proces farbowania oraz stabilizatory barwników. Związki te stosuje się także w hydrometalurgii. Dzięki tym właściwościom czwartorzędowe sole amoniowe coraz częściej są wykorzystywane w przemyśle chemicznym, gdzie znalazły zastosowanie jako inhibitory w procesach hydratacji gazów [21].

PIŚMIENNICTWO

- [1] Agrawal A., Hila A., Tutuian R., Maine I., Castell D.O.: Bethanechol improves smooth muscle function in patients with severe ineffective esophageal motility. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2007; 41: 366–370
- [2] Aiad I., El-Sukkary M.M., Soliman E.A., El-Awady M.Y., Shaban S.M.: Characterization, surface properties and biological activity of new prepared cationic surfactants. *J. Ind. Eng. Chem.*, 2014; 20: 1633–1640
- [3] Alam M.S., Takahashi S., Ito M., Komura M., Ono M., Daio C., Sangsriratanakul N., Shoham D., Alam J., Takehara K.: Virucidal efficacy of a quaternary ammonium compound with food additive-grade calcium hydroxide toward avian influenza virus and Newcastle disease virus on abiotic carriers. *Avian Dis.*, 2018; 62: 355–363
- [4] Alav I., Sutton J.M., Rahman K.M.: Role of bacteria efflux pumps in biofilm formation. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2018; 73: 2003–2020
- [5] Andrade Lopes L.A., dos Santos Rodrigues J.B., Magnani M., de Souza E.L., de Siqueira-Júnior J.P.: Inhibitory effects of flavonoids on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* that overexpresses efflux protein genes. *Microb. Pathog.*, 2017; 107: 193–197
- [6] Azarmi R., Ashjarian A.: Type and application of some common surfactants. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2015; 7: 632–640
- [7] Bay D.C., Stremick C.A., Slipski C.J., Turner R.J.: Secondary multidrug efflux pump mutants alter *Escherichia coli* biofilm growth in the presence of cationic antimicrobial compounds. *Res. Microbiol.*, 2017; 168: 208–221
- [8] Bell P.C., Bergsma M., Dolbnya I.P., Bras W., Stuart M.C., Rowan A.E., Feiters M.C., Engberts J.B.: Transfection mediated by gemini surfactants: Engineered escape from the endosomal compartment. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003; 125: 1551–1558
- [9] Biles C.L., Wright D., Fuego M., Guinn A., Cluck T., Young J., Martin M., Biles J., Poudyal, S.: Differential chlorate inhibition of *Chaetomium globosum* germination, hyphal growth, and perithecia synthesis. *Mycopathologia*, 2012; 174: 475–487
- [10] Böcking T., Barrow K.D., Netting A.G., Chilcott T.C., Coster H.G., Höfer M.: Effects of singlet oxygen on membrane sterols in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur. J. Biochem.*, 2000; 267: 1607–1618

- [11] Bozzuto G., Molinari A.: Liposomes as nanomedical devices. *Int. J. Nanomedicine*, 2015; 10: 975–999
- [12] Brycki B., Szulc A.: Gemini alkyldeoxy-D-glucitolammonium salts as modern surfactants and microbicides: Synthesis, antimicrobial and surface activity, biodegradation. *PLoS One*, 2014; 9: e84936
- [13] Buffet-Bataillon S., Le Jeune A., Le Gall-David S., Bonnaure-Mallet M., Jolviet-Gougeon A.: Molecular mechanisms of higher MICs of antibiotics and quaternary ammonium compounds for *Escherichia coli* isolated from bacteraemia. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 2012; 67: 2837–2842
- [14] Buffet-Bataillon S., Tattevin P., Maillard J.Y., Bonnaure-Mallet M., Jolviet-Gougeon A.: Efflux pump induction by quaternary ammonium compounds and fluoroquinolone resistance in bacteria. *Future Microbiol.*, 2016; 11: 81–92
- [15] Campbell R.B., Fukumura D., Brown E.B., Mazzola L.M., Izumi Y., Jain R.K., Torchilin V.P., Munn L.L.: Cationic charge determines the distribution of liposomes between the vascular and extravascular compartments of tumors. *Cancer Res.*, 2002; 62: 6831–6836
- [16] Chou L., Ming K., Chan W.C.: Strategies for the intracellular delivery of nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.*, 2011; 40: 233–245
- [17] Claxton D.P., Jagessar K.L., Steed P.R., Stein R.A., Mchaourab H.S.: Sodium and proton coupling in the conformational cycle of a MATE antiporter from *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018; 115: 6182–6190
- [18] Costa S.S., Viveiros M., Amaral L., Couto I.: Multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*: An update. *Open Microbiol. J.*, 2013; 7: 59–71
- [19] Deshpande P., Biswas S., Torchilin V.P.: Current trends in the use of liposomes for tumor targeting. *Nanomedicine*, 2013; 8: 1509–1528
- [20] Ferreira J.M.: The quat advantage: Quaternary ammonium chloride and its advantages in healthcare facilities. *Periton Dialysis Int.*, 2015
- [21] Fink J.: General aspects of pipelines. W: *Guide to the Practical Use of Chemicals in Refineries and Pipelines*, red.: J. Fink. Gulf Professional Publishing, 2016, 3–23
- [22] Fontaine F., Héquet A., Vosin-Chiret A.S., Bouillon A., Lesnard A., Cresteil T., Jolivald C., Rault S.: Boronic species as promising inhibitors of the *Staphylococcus aureus* NorA efflux pump: Study of 6-substituted pyridine-3-boronic acid derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015; 95: 185–198
- [23] Forbes S., Cowley N., Humphreys G., Mistry H., Amézquita A., McBain A.J.: Formulation of biocides increases antimicrobial potency and mitigates the enrichment of nonsusceptible bacteria in multispecies biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2017; 83: e03054–16
- [24] Fox E.M., Leonard N., Jordan K.: Physiological and transcriptional characterization of persistent and nonpersistent *Listeria monocytogenes* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2011; 77: 6559–6569
- [25] Gerba C.P.: Quaternary ammonium biocides: Efficacy in application. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2015; 81: 464–469
- [26] Ghatak P.D., Mathew-Steiner S.S., Pandey P., Roy S., Sen C.K.: A surfactant polymer dressing potentiates antimicrobial efficacy in biofilm disruption. *Sci. Rep.*, 2018; 8: 873
- [27] Ghotaslou R., Yekani M., Memar M.Y.: The role of efflux pumps in *Bacteroides fragilis* resistance to antibiotics. *Microbiol. Res.*, 2018; 210: 1–5
- [28] Goik U., Załęska-Żyłka I., Pietrzycka A.: Liposomy jako nośniki substancji aktywnych przenoszonych w głąb skóry. *Inż. Biomater.*, 2015; 18: 27–39
- [29] Gunawardena G.: Quaternary Ammonium Salt. *OChemPal*. <http://www.ochempal.org/index.php/alphabetical/q-r/quaternary-ammonium-salt> (08.12.2019)
- [30] Honing G., Martini C.H., Bom A., van Velzen M., Niesters M., Aarts L., Dahan A., Boon M.: Safety of sugammadex for reversal of neuromuscular block. *Expert Opin. Drug Saf.*, 2019; 18: 883–891
- [31] Ito M., Alam M.S., Suzuki M., Takahashi S., Komura M., Sangsriratkul N., Shoham D., Takehara K.: Virucidal activity of a quaternary ammonium compound associated with calcium hydroxide on avian influenza virus, Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus. *J. Vet. Med. Sci.*, 2018; 80: 574–577
- [32] Jarmuła A., Obląk E., Wawrzycka D., Gutowicz J.: Oporność wielolekowa związana z aktywnym usuwaniem leków z komórek drobnoustrojów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 216–227
- [33] Kampf G.: Biocidal agents used for disinfection can enhance antibiotic resistance in gram-negative species. *Antibiotics*, 2018; 7: 110
- [34] Kosmowska N., Luczak W., Gwiazdowska D., Michocka K., Wiczorek D.: Antibacterial activity of chemical compounds used as surfactants. W: *Current Trends in Commodity Science: Development and Assessment of Non-Food Products*, red.: K. Michocka, M. Tichoniuk. Poznań University of Economics and Business, Poznań 2016, 54–67
- [35] Krahl A., Zachariae U.: Insights into the ion-coupling mechanism in the MATE transporter NorM-VC. *Phys. Biol.*, 2017; 14: 045009
- [36] Krzyżewska E., Książczyk M., Kędziora A., Futoma-Kołoch B., Bugła-Płokońska G.: Modyfikacje struktur komórkowych mikroorganizmów wywołane działaniem biocydów. *Post. Mikrobiol.*, 2015; 54: 380–391
- [37] Lipińska-Ojrzanowska A., Walusiak-Skorupa J.: Czwartorzędowe związki amoniowe – nowe zagrożenie w środowisku pracy. *Med. Pr.*, 2014; 65: 675–682
- [38] Martínez-Suárez J.V., Ortiz S., López-Alonso V.: Potential impact of the resistance to quaternary ammonium disinfectants on the persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environments. *Front. Microbiol.*, 2016; 7: 638
- [39] McNeil H.E., Alav I., Torres R.C., Rossiter A.E., Laycock E., Legood S., Kaur I., Davies M., Wand M., Webber M.A., Bavro V.N., Blair J.M.: Identification of binding residues between periplasmic adapter protein (PAP) and RND efflux pumps explains PAP-pump promiscuity and roles in antimicrobial resistance. *PLoS Pathog.*, 2019; 15: e1008101
- [40] Muthuprasanna P., Surya K., Sobhita P., Satish babu I.A., Sarath Chandiran I., Ganesan A., Shalini S.: Basics and potential applications of surfactants – A review. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 2009; 1: 1354–1365
- [41] Myers D.: *Surfactants science and technology*, Third edition. Wiley-Interscience A John Wiley & Sons, Inc. Publication, Hoboken, New Jersey 2006
- [42] Nagashima S., Matsushima Y., Hamaguchi H., Nagata H., Kontani T., Moritomo A., Koshika T., Takeuchi M.: Novel quinuclidinyl heteroaryl-carbamate derivatives as muscarinic receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem.*, 2014; 22: 3478–3487
- [43] Obląk E., Bącal J., Lachowicz T.M.: A quaternary ammonium salt as an inhibitor of plasma membrane H⁺-ATPase in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 2000; 5: 315–324
- [44] Obląk E., Gamian A.: Biologiczna aktywność czwartorzędowych soli amoniowych (CSA). *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 201–211
- [45] Obląk E., Piecuch A., Maciaszczyk-Dziubińska E., Wawrzycka D.: Quaternary ammonium salt N-(dodecyloxy-carboxymethyl)-N,N,N-trimethyl ammonium chloride induced alterations in *Saccharomyces cerevisiae* physiology. *J. Biosci.*, 2016; 41: 601–614

- [46] Obląg E., Piecuch A., Rewak-Soroczyńska J., Paluch E.: Activity of gemini quaternary ammonium salts against microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2019; 103: 625–632
- [47] Paluch E.: Biologiczna aktywność nowo zsyntezowanych kationowych surfaktantów wielofunkcyjnych wobec wybranych mikroorganizmów. Praca doktorska. Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, Wrocław 2018
- [48] Paluch E., Piecuch A., Obląg E., Lamch Ł., Wilk K.A.: Antifungal activity of newly synthesized chemodegradable dicationic surfactants. *Colloids Surf. Biointerfaces*, 2018; 164: 34–41
- [49] Percival S.L., Mayer D., Salisbury A.M.: Efficacy of a surfactant-based wound dressing on biofilm control. *Wound Repair Regen.*, 2017; 25: 767–773
- [50] Pereira M.O., Machado I., Simões M., Vieira M.J.: Preventing biofilm formation using surfactants. *BiofilmClub*, Manchester 2007
- [51] Pernak J., Rzemieniecki T., Materna K.: O cieczach jonowych „w pigułce” (historia, właściwości i rozwój). *Chemik*, 2016; 70: 471–480
- [52] Piskorska T., Obląg E.: Surfaktanty gemini jako nośniki genów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 161–166
- [53] Priyanto S., Mansoori G.A., Suwon A.: Measurement of property relationships of nano-structure micelles and coacervates of asphaltene in a pure solvent. *Chem. Eng. Sci.*, 2001; 56: 6933–6939
- [54] Proszowska A., Siódmak T., Marszałt M.P.: Ciecze jonowe – nowe możliwości w syntezie substancji leczniczych. *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2012; 66: 59–65
- [55] Radchenko M., Symersky J., Nie R., Lu M.: Structural basis for the blockade of MATE multidrug efflux pumps. *Nat. Commun.*, 2015; 6: 7995
- [56] Sharma R.K.: Surfactants: Basics and versatility in food industries. *PharmaTutor*, 2014; 2: 17–29
- [57] Simoncic B., Tomsic B.: Structures of novel antimicrobial agents for textiles – A review. *Text. Res. J.*, 2010; 80: 1721–1737
- [58] Slipski C.J., Zhanel G.G., Bay D.C.: Biocide selective TolC-independent efflux pumps in *Enterobacteriaceae*. *J. Membr. Biol.*, 2018; 251: 15–33
- [59] Telesiński A., Śnioszek M., Biczak R., Pawłowska B.: Zagrożenia środowiskowe i toksykologiczne wynikające ze stosowania czwartorzędowych soli amoniowych. *Kosmos*, 2016; 65: 495–502
- [60] Teper P., Stachurek I.: Oddziaływanie na zdrowie człowieka i środowisko czwartorzędowych amin jako składników środków dezynfekujących. *Zesz. Nauk. WSZOP*, 2016; 1: 113–122
- [61] Wiercińska O., Chojecka A., Kanclerski K., Röhm-Rodowald E., Jakimiak B.: Znaczenie pomp efflux w wielolekowej oporności gram-ujemnych bakterii. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2015; 67: 55–62
- [62] Yadav S., Gandham S.K., Panicucci R., Amiji M.M.: Intranasal brain delivery of cationic nanoemulsion-encapsulated TNF α siRNA in prevention of experimental neuroinflammation. *Nanomedicine*, 2016; 12: 987–1002
- [63] Yu Q., Zhang B., Ma F., Jia C., Xiao C., Zhang B., Xing L., Li M.: Novel mechanisms of surfactants against *Candida albicans* growth and morphogenesis. *Chem. Biol. Interact.*, 2015; 227: 1–6
- [64] Yuan C.L., Xu Z.Z., Fan M.X., Liu H.Y., Xie Y.H., Zhu T.: Study on characteristics and harm of surfactants. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2014; 6: 2233–2237
- [65] Zied D.C., Nunes J.S., Nicolini V.F., Gimenez A.P., Rinker D.L., Dias E.S.: Tolerance to *Lecanicillium fungola* and yield of *Agaricus bisporus* strains used in Brazil. *Sci. Hort.*, 2015; 190: 117–122
- [66] Zimmermann S., Klinger-Strobel M., Bohnert J.A., Wendler S., Rödel J., Pletz M.W., Löffler B., Tuchscher L.: Clinically approved drugs inhibit the *Staphylococcus aureus* multidrug NorA efflux pump and reduce biofilm formation. *Front. Microbiol.*, 2019; 10: 2762

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.