

МИКРОБИОЛОГИЯ

М. Г. БРАЖНИКОВА

**ВЛИЯНИЕ ГРАМИЦИДИНА С НА ДЫХАНИЕ ЗОЛОТИСТОГО
СТАФИЛОКОККА И КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ***(Представлено академиком А. И. Опариным 9 I 1948)*

Определение поглощения бактериями кислорода в аппарате Варбурга позволяет объективно сравнить действие различных веществ на процесс дыхания у одних и тех же бактерий, или действие одного определенного вещества на различных бактерий. Этим методом мы можем установить не конечный результат влияния исследуемого вещества, а динамику этого влияния во времени и охарактеризовать тип его действия.

Исследования Дюбо и Гочкис (1,2) показали, что грамицидин Дюбо и тироцидин действуют на дыхание золотистых стафилококков различным образом. Тироцидин в концентрациях от 1 до 40 $\gamma/\text{см}^3$ подавляет дыхание золотистых стафилококков, причем в концентрации 1 $\gamma/\text{см}^3$ это подавление является не столь резким, как при 40 γ . Грамицидин Дюбо в концентрациях от 1 до 40 $\gamma/\text{см}^3$ вызывает резкую стимуляцию дыхания в течение первого — второго часа, а затем значительное падение дыхания. Таким образом, тироцидин подавляет дыхание стафилококков тотчас же после прибавления его к суспензии микробов, а грамицидин подавляет дыхание лишь после значительной начальной стимуляции. На основании этих данных было сделано заключение о том, что грамицидин Дюбо и тироцидин обладают различным механизмом действия на золотистых стафилококков.

В связи с этим интересно было исследовать действие грамицидина С на дыхание золотистых стафилококков и кишечной палочки. Эксперименты проводились нами на культурах золотистого стафилококка и кишечной палочки, снятых с питательного агара и суспендированных в фосфатном буфере (рН = 7,5) с прибавлением 0,1—1% глюкозы. Ввиду отсутствия азота в этой среде стафилококки не могли в ней размножиться (стационарная культура). Густота суспензии бактерий подбиралась таким образом, чтобы за час 1 см^3 суспензии поглощал 80—120 мм^3 кислорода. Грамицидин С добавлялся с таким расчетом, чтобы конечная концентрация его в сосудике Варбурга равнялась соответственно 2½, 5, 10 и 20 $\gamma/\text{см}^3$ раствора. Суспензия бактерий наливалась в сосудики Варбурга в количестве 1 см^3 . Для поглощения выделяемой бактериями углекислоты в боковое отделение сосудика наливалось 0,1 см^3 5% КОН. Сосудики с манометрами насыщались кислородом, помещались в водяной термостат и встряхивались при 37° С.

Результаты опытов представлены в виде кривых на рис. 1, 2 и 3.

Рис. 1 представляет кривые дыхания золотистого стафилококка в контроле и при различных концентрациях грамицидина С. Суспензия микробов содержала 1% глюкозы. На оси абсцисс отложено время.

На оси ординат — O_2 в процентах по отношению к первоначальному поглощению кислорода до прибавления грамицидина. При концентрации грамицидина $40 \text{ } \gamma/\text{см}^3$ дыхание стафилококков подавляется столь резко, что уже с самого начала опыта нельзя обнаружить потребления кислорода стафилококками. Как показывает ход кривых, грамицидин С в концентрациях 10 и $20 \text{ } \gamma/\text{см}^3$ подавляет потребление кислорода культурой стафилококка. При этом в концентрации $20 \text{ } \gamma$ происходит резкое подавление дыхания в течение первого часа, а затем в течение $3-4$ последующих часов дыхание держится почти на одном уровне и кривая поглощения идет параллельно оси абсцисс.

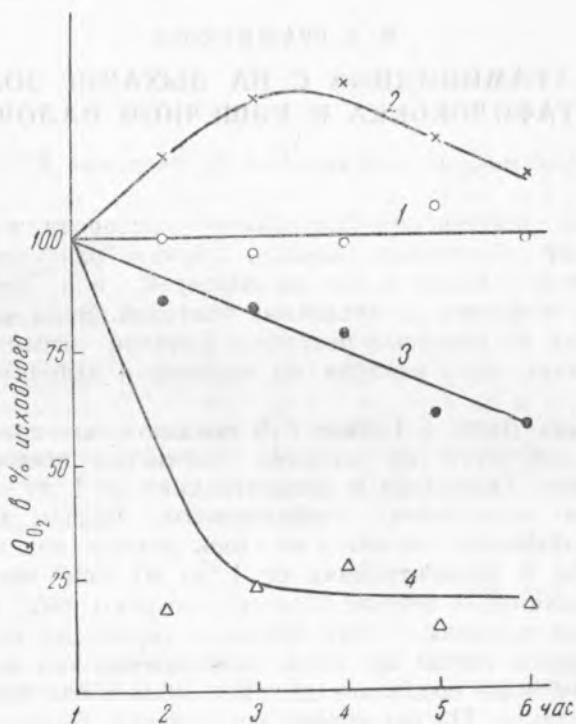


Рис. 1. Поглощение кислорода суспензией золотистых стафилококков в контроле (без грамицидина) и при различных концентрациях грамицидина: 1 — контроль, 2 — $5 \text{ } \gamma/\text{см}^3$, 3 — $10 \text{ } \gamma/\text{см}^3$, 4 — $20 \text{ } \gamma/\text{см}^3$

Вначале мы предположили, что небольшая остаточная величина дыхания при концентрации грамицидина С $20 \text{ } \gamma/\text{см}^3$ (около 20% исходной величины) объясняется тем, что в суспензии сохраняются наиболее резистентные клетки, на которые грамицидин в этой концентрации не действует. Однако последующий высеv на чашки Петри с питательным агаром не обнаружил жизнеспособных микробов. Отсюда можно заключить, что под действием грамицидина С необратимо изменяется жизнеспособность клеток, а остаточное дыхание, очевидно, происходит за счет ферментативных систем, еще сохранивших свою активность.

При концентрациях грамицидина С $2\frac{1}{2}$ и $5 \text{ } \gamma/\text{см}^3$ наблюдается стимулирующая дыхания по сравнению с контролем, причем это стимулирующее действие не исчезает в течение всего хода опыта (5—6 час.).

При содержании в суспензии стафилококков 0,1% глюкозы стимулирующее действие грамицидина на дыхание проявляется более резко, чем при содержании 1% глюкозы. На рис. 2 представлено действие грамицидина на дыхание стафилококков при содержании в суспензии

микробов 0,1 и 1% глюкозы. Можно видеть, что при концентрации глюкозы 0,1% стимулирующее действие грамицидина выражено более резко, чем при концентрации 1%.

Отсюда можно заключить, что увеличенное поглощение кислорода суспензией микробов в первом случае происходит за счет сжигания каких-то эндогенных запасных материалов, распад которых стимулируется грамицидином. При большем содержании глюкозы в окружающей среде (1%) микробы в основном сжигают прибавленный сахар, и последний, повидимому, частично маскирует стимулирующее действие грамицидина С на дыхание стафилококков.

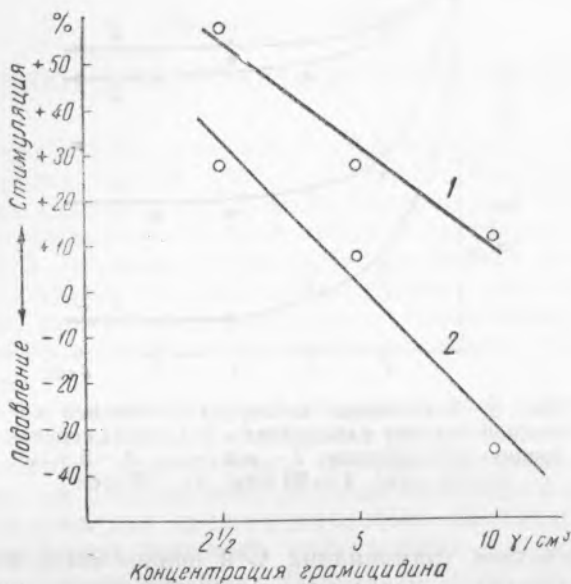


Рис. 2. Действие грамицидина на поглощение кислорода суспензией золотистых стафилококков при различном содержании глюкозы в суспензионной среде: 1—0,1% глюкозы, 2 — 1% глюкозы

При изучении действия грамицидина С на кишечную палочку было установлено, что эта бактерия более устойчива по отношению к грамицидину, чем золотистый стафилококк. Даже при концентрации грамицидина, равной 100 г/см³, имеется еще некоторое поглощение кислорода культурой кишечной палочки. Ни одна из испытанных нами концентраций грамицидина С (5, 10, 20 и 40 г/см³) не оказывала стимулирующего действия на дыхание кишечной палочки.

Кривые поглощения кислорода кишечной палочкой изображены на рис. 3. Концентрация грамицидина С 5 г/см³ в некоторых опытах совсем не действует на дыхание, а иногда вызывает слабое угнетение. При более высоких концентрациях грамицидина С угнетение дыхания тем больше, чем выше концентрация.

Таким образом, грамицидин С оказывает различное действие на поглощение кислорода золотистым стафилококком и кишечной палочкой. Поскольку как грамицидин Дюбо, так и грамицидин С в небольших концентрациях вызывают стимуляцию потребления кислорода суспензией золотистых стафилококков, то этот тип действия на дыхание может быть назван «грамицидиновым» типом действия. Более высокие стимулирующие концентрации грамицидина Дюбо могут объясняться тем, что этот препарат вообще менее активен в отношении стафилокок-

ков, чем грамицидин С, и поэтому для достижения одинакового действия на микробов необходимы более высокие концентрации первого препарата.

При действии на кишечную палочку грамицидин С обнаруживает угнетающий или «тироцидининовый» тип действия без всякой фазы стимуляции.

На основании этих данных можно предполагать, что механизм действия грамицидина С на золотистых стафилококков и кишечную палочку различен.

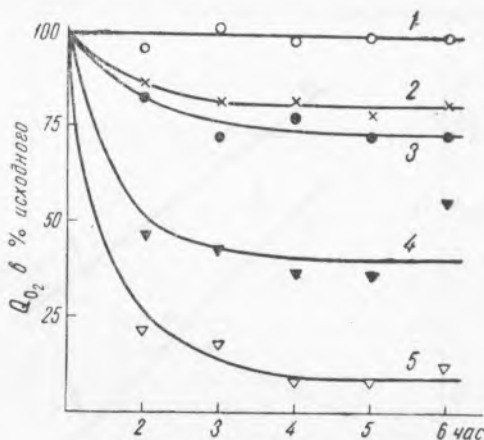


Рис. 3. Поглощение кислорода суспензией кишечной палочки в контроле и в различных концентрациях грамицидина: 1 — контроль, 2 — 5 $\gamma/\text{см}^3$, 3 — 20 $\gamma/\text{см}^3$, 4 — 50 $\gamma/\text{см}^3$, 5 — 100 $\gamma/\text{см}^3$

Сравнение действия грамицидина С и пенициллина на дыхание золотистых стафилококков показывает существование принципиального различия между этими веществами: пенициллин угнетает потребление кислорода лишь в растущей культуре стафилококков и не оказывает действия на дыхание микробов, суспендированных в безазотистой среде при отсутствии размножения последних (3).

Институт малярии и медицинской
паразитологии
Академии Медицинских Наук СССР

Поступило
2 I 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. Dubos, R. Hotchkiss and A. Coburn, J. Biol. Chem. **146**, 421 (1942).
² R. Hotchkiss, Adv. Enzym., **4**, 153 (1944). ³ J. Hirsch, C. R. Ann. Soc. Turque Sci. Nat., **12** (1945).